



Universidade Federal do Maranhão
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto
Mestrado Acadêmico



**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *WHEY PROTEINS*
E DO TREINAMENTO RESISTIDO DE DOZE SEMANAS
SOBRE A FUNÇÃO RENAL DE RATOS WISTAR**

Alanna Joselle Santiago Silva

**São Luís
2019**

Alanna Joselle Santiago Silva

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *WHEY PROTEINS*
E DO TREINAMENTO RESISTIDO DE DOZE SEMANAS
SOBRE A FUNÇÃO RENAL DE RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde do Adulto e da Criança.

Área de Concentração: Ciências aplicadas à saúde do adulto.

Linha de Pesquisa: Avaliação clínica, laboratorial e experimental.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Navarro.

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Coppi Navarro.

Coordenadora: Prof^a. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

São Luís
2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Santiago Silva, Alanna Joselle.

Efeitos da suplementação de whey proteins e do treinamento resistido de doze semanas sobre a função renal de ratos Wistar / Alanna Joselle Santiago Silva. - 2019. 136 f.

Coorientador(a): Antônio Coppi Navarro.

Orientador(a): Francisco Navarro.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Creatinina. 2. Proteinúria. 3. Treinamento resistido. 4. Ureia. 5. Whey proteins. I. Coppi Navarro, Antônio. II. Navarro, Francisco. III. Título.

ALANNA JOSELLE SANTIAGO SILVA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *WHEY PROTEINS* E DO
TREINAMENTO RESISTIDO DE DOZE SEMANAS SOBRE A
FUNÇÃO RENAL DE RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde do Adulto e da Criança.

A Banca Examinadora da Defesa de Mestrado, apresentada em sessão pública, considerou o candidato aprovado em: ____/____/____.

Prof. Dr. Francisco Navarro (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Carlos Eduardo Neves Amorim (Examinador externo ao programa)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Antônio Coppi Navarro (Examinador externo ao programa)
Universidade Federal do Maranhão

Prof^a. Dr^a. Janaína de Oliveira Brito-Monzani (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof^a. Dr^a. Melaine Mont'Alverne Lawall Silva (Examinador externo ao programa)
Universidade Federal do Maranhão

À Deus, por ser a principal companhia em cada etapa concluída.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Adelbino Silva (*in memoriam*) e Maria de Fátima Araujo Santiago Silva, que apesar de tudo sempre deram prioridade à minha educação, saúde e felicidade, dando suporte para que até aqui eu chegasse. Amo vocês!

Aos meus avós, Humberto Santiago e Marina Santiago que mesmo tendo pouco estudo, sempre incentivaram a nunca desistir tornando isso tudo importante também para eles. Aos demais membros da família: tios (as) e primos (as).

Ao meu irmão Caleu Santiago que também se tornou um exemplo para mim, e por todo apoio pra seguir em frente.

Ao meu amor, Marcos de Souza Menezes, pela motivação diária, pelo companheirismo, pela paciência e cuidado. Essa conquista também é sua!

Aos meus parceiros de laboratório Raphael Furtado Marques e Marcos Roberto Campos de Macêdo: “No princípio tudo era sem forma e vazio”. Precisamos passear no mercado central novamente!

Aos demais companheiros do Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão, sem vocês nada disso seria possível. Em especial à Milena Silva de Oliveira, por ser uma amiga sempre presente nos bons e maus momentos, de vida e de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto do Laboratório de Fisiologia (LEFISIO) pela parceria e ensinamento na realização das dosagens bioquímicas. Jamais esquecerei os finais de semana de muitas pipetagens e sua total disponibilidade.

À Profa. Dra. Melaine Mont’Alverne Lawall Silva e Prof. Dr. Vinicyus Telles pela parceria no treinamento para preparo das lâminas histológicas e análise morfológica. Os ensinamentos foram um presente para mim.

E, finalmente, agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Francisco Navarro, principalmente pelos ensinamentos para a vida, pela paciência e pela oportunidade.

Agradeço também ao meu Co-orientador Prof. Dr. Antônio Coppi Navarro, pela paciência, pelos sermões e pelos ensinamentos sobre o que é ser um professor.

A vocês minha gratidão!

Nada na vida deve ser temido, somente compreendido. Agora é o momento de compreender mais para temer menos.

(Marie Skłodowska Curie)

RESUMO

Introdução: Os efeitos da suplementação de *whey proteins* sob a função renal e treinamento resistido têm sido investigados, mas ainda é necessário relacionar a dose e intensidade. **Objetivo:** Avaliar a função renal de ratos machos Wistar após doze semanas de treinamento resistido e suplementação em doses de 2, 4 e 6 g·kg·dia⁻¹ de *whey proteins*. **Métodos:** 64 ratos machos Wistar foram alocados em 8 grupos: Controle, Sedentário+2g·kg·dia⁻¹, Sedentário+4g·kg·dia⁻¹, Sedentário+6g·kg·dia⁻¹, Treinado Controle, Treinado+2g·kg·dia⁻¹, Treinado+4g·kg·dia⁻¹, Treinado+6g·kg·dia⁻¹. O treinamento foi de escalada em escada vertical, sendo 3 sessões de treino/semana com 4 escaladas/sessão tendo intensidade 50%, 75%, 90% e 100% respectivamente, determinadas pelo teste de Peso Máximo Carregado ajustado a cada duas semanas. Após doze semanas foram alocados em gaiolas metabólicas para coleta de urina de 24h e verificou-se o volume da urina, análise de pH, Densidade, Proteinúria e glicosúria em tira reagente. Também foi quantificada por colorimetria Proteinúria, Ureia e Creatinina de 24h. Após a eutanásia analisou-se proteínas totais, albumina, ácido úrico, Creatinina e Ureia no soro. Na análise histológica foi mensurado o diâmetro glomerular para obtenção do raio para verificar hipertrofia glomerular. **Resultados:** Proteinúria (tira reagente) aumentou conforme a dose em sedentários, o mesmo efeito ocorreu na Proteinúria (quantitativa). Ureia Sérica aumentou no Controle. Creatinina Sérica e Creatinina/24h aumentaram em dose-resposta ao tratamento. Ácido Úrico aumentou para os treinados 4 e 6g·kg·dia⁻¹. Relação Proteína/Creatinina diminuiu sendo atenuada pelo treinamento. Os sedentários suplementados com 4 e 6g·kg·dia⁻¹ apresentaram prejuízo renal confirmado pela hipertrofia glomerular. **Conclusão:** O treinamento resistido de alta intensidade atenuou prejuízos renais somente em dose de 2g·kg·dia⁻¹ de *whey proteins*.

Palavras-chave: *Whey proteins*. Treinamento resistido. Proteinúria. Creatinina. Ureia.

ABSTRACT

Introduction: The effects of *whey proteins* supplementation under the renal function and strenght training have been investigated, but dose and intensity still need to be related. **Aim:** To evaluate the renal function of male Wistar rats after twelve weeks of strenght training and supplementation at doses of 2, 4 and 6g·kg·day⁻¹ of *whey proteins*. **Methods:** 64 male Wistar rats were allocated in 8 groups: Control, Sedentary+2g·kg·day⁻¹, Sedentary+4g·kg·day⁻¹, Sedentary+6g·kg·day⁻¹, Trained Control, Trained+2g·kg·day⁻¹, trained+4g·kg·day⁻¹, trained+6g·kg·day⁻¹. The training was vertical stair climbing, with 3 trainings sessions/week with 4 climbs/sessions having intensity of 50%, 75%, 90% and 100%, respectively, determined by the maximum loaded weight test adjusted every two weeks. After twelve weeks, they were placed in metabolic cages for 24-hour urine collection and urine volume, pH, density, proteinuria and glycosuria were analyzed on a reagent strip. It was also quantified by colorimetry proteinuria, Urea and creatinine of 24h. After euthanasia, total proteins, albumin, uric acid, creatinine and serum urea were analyzed. For Histological analysis the glomerular diameter was measured to obtain the radius to verify glomerular hypertrophy. **Results:** Proteinuria (reagent strip) increased according to the dose in sedentary, the same effect occurred in Proteinuria (quantitative). Serum urea increased in Control. Serum creatinine and creatinine/24-hour increased in dose-response to treatment. Uric acid increased for the trained 4 and 6g·kg·day⁻¹. Protein / creatinine ratio decreased by being attenuated by training. The sedentary supplemented with 4 and 6g·kg·day⁻¹ presented renal impairment confirmed by glomerular hypertrophy. **Conclusion:** High-intensity resistance training attenuated renal impairment only at a dose of 2g·kg·day⁻¹ of whey proteins.

Keywords: Whey proteins. Strenght Training. Proteinuria. Creatinine. Urea.

LISTA DE QUADROS

Quadro	Título	Página
Quadro 1 –	Composição nutricional da ração para animais de laboratório (Nuvilab® CR-1)	67
Quadro 2 –	Composição Nutricional do suplemento H.I Whey (<i>Essential Nutrition</i> ®)	69
Quadro 3 –	Aminograma do suplemento H.I Whey (<i>Essential Nutrition</i> ®)	70

LISTA DE TABELAS

Tabela	Título da Tabela	Página
Tabela 1 –	Massa Corporal Total (MCT) e Relativa em Média, Erro Padrão e Percentual.	82
Tabela 2 –	Consumo absoluto de <i>whey proteins</i> (g·semana ⁻¹) em média e erro padrão da média por grupo.	84
Tabela 3 –	Variação do Peso Máximo Carregado (g) em média e desvio padrão conforme reajuste a cada duas semanas de treinamento resistido.	86
Tabela 4 –	Parâmetros físicos do teste de urina de 24h apresentados em média e erro padrão.	90
Tabela 5 –	Análise química em tiras reagentes apresentada em percentual por grupo conforme a classificação por analito.	91
Tabela 6 –	Concentração dos marcadores urinários proteína, Creatinina e Ureia (absolutos e por 24h), apresentados em média e erro padrão da média.	93
Tabela 7 –	Concentração dos biomarcadores séricos Proteína Total, Creatinina, Ureia, Albumina e Ácido Úrico apresentados em média e erro padrão da média.	97
Tabela 8 –	Equações de estimativa da função renal, com resultados apresentados em média e erro padrão da média.	101

Tabela 9 – Valores de peso absoluto e relativo do rim direito, e raios glomerulares apresentados em média e erro padrão da média.

105

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título da Figura	Página
Figura 1 –	Percentual das proteínas componentes do leite.	22
Figura 2 –	Principais benefícios das <i>whey proteins</i> sobre processos biológicos.	23
Figura 3 –	Percentual de valor biológico do <i>whey proteins</i> em relação à outras fontes de proteína.	25
Figura 4 –	Proporção de aminoácidos essenciais do <i>whey proteins</i> em relação à outras fontes de proteína.	26
Figura 5 –	Concentração aproximada de Creatina muscular total (mmol/kg DW de peso seco muscular) relatados conforme a dieta.	57
Figura 6 –	Dissociação entre Taxa de Filtração Glomerular e Creatinina Sérica na evolução da Lesão Renal Aguda.	59
Figura 7 –	Equação para determinação do <i>Clearance</i> de Creatinina.	59
Figura 8 –	Organização e divisão dos grupos.	65
Figura 9 –	Etapas do experimento durante 12 semanas.	66
Figura 10 –	Escada de Treinamento resistido para ratos.	68
Figura 11 –	Fórmula para cálculo da Concentração Comum da solução.	70

Figura 12 –	Gavagem.	72
Figura 13 –	Seringa e agulha de gavagem.	72
Figura 14 –	Gaiolas metabólicas individuais.	73
Figura 15 –	Escala de classificação do exame químico em tiras reagentes para urina.	74
Figura 16 –	Corte longitudinal dos rins.	78
Figura 17 –	<i>Software</i> de Análise de Imagem.	79
Figura 18 –	Representação gráfica de Δ MCT (g) intergrupos.	83
Figura 19 –	Variação do Peso Máximo Carregado.	87
Figura 20 –	Representação gráfica do Peso Máximo Carregado do grupo TC.	88
Figura 21 –	Representação gráfica do Peso Máximo Carregado do grupo TW2.	89
Figura 22 –	Representação gráfica do Peso Máximo Carregado do grupo TW2.	89
Figura 23 –	Representação gráfica do Peso Máximo Carregado do grupo TW2.	89
Figura 24 –	Representação gráfica da concentração urinária de Creatinina (mg/dL).	94

Figura 25 –	Representação gráfica da Creatinina de 24h (mg/24h).	95
Figura 26 –	Representação gráfica da concentração urinária de Ureia (mg/dL).	95
Figura 27 –	Representação gráfica da concentração sérica de Proteína Total (mg/dL).	98
Figura 28 –	Representação gráfica da concentração de Creatinina Sérica (mg/dL).	98
Figura 29 –	Representação gráfica da concentração de Ureia Sérica (mg/dL).	99
Figura 30 –	Representação gráfica da concentração sérica de Ácido Úrico (mg/dL).	100
Figura 31 –	Representação gráfica da Creatinina excretada por 24h relativa à massa corporal (mg/kg).	102
Figura 32 –	Representação gráfica da Depuração de Creatinina (mL/min).	103
Figura 33 –	Representação gráfica da Relação Proteína/Creatinina Urinárias (mg/mg).	103
Figura 34 –	Representação gráfica da Relação Ureia/Creatinina Séricas (mg/mg).	104
Figura 35 –	Representação gráfica do Peso do rim em valor absoluto (g).	106
Figura 36 –	Representação gráfica do Rim em valor relativo à MCT	106

(%).

Figura 37 –	Representação gráfica do Raio dos Glomérulos (μm).	107
Figura 38 –	Imagens dos glomérulos dos grupos sedentários.	108
Figura 39 –	Imagens dos glomérulos dos grupos treinados.	109

SUMÁRIO

	página
1 INTRODUÇÃO	18
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1 <i>Whey proteins</i>	21
2.2 Treinamento resisitido, suplementação de <i>whey proteins</i> e avaliação da função renal	28
2.3 Suplementação de <i>whey proteins</i> e avaliação da função renal associada a outros modelos de treinamento	32
2.4 Suplementação de <i>whey proteins</i> em ratos e camundongos sedentários e avaliação da função renal	33
2.5 Avaliação da função renal em ratos e camundongos treinados não suplementados	46
2.6 Biomarcadores de Função Renal	53
2.6.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)	53
2.6.2 Densidade	54
2.6.3 Glicosúria	55
2.6.4 Proteinúria	55
2.6.5 Creatinina	56
2.6.6 Ureia	60
2.6.7 Albumina e Proteínas totais	60
3 HIPÓTESES	62
3.1 Hipótese Nula	62
3.2 Hipótese Afirmativa	62
4 OBJETIVOS	62
4.1 Geral	62
4.2 Específicos	62
5 MATERIAIS E MÉTODOS	63
5.1 Revisão	63
5.2 Aspectos éticos	64
5.3 Tipo de estudo	64

5.4	Período e local do estudo	64
5.5	Amostra	65
5.6	Divisão dos grupos	65
5.7	Desenho do estudo	66
5.8	Alojamento e controle de consumo da ração e água	66
5.9	Procedimentos do treinamento resistido	67
5.10	Procedimentos de administração do <i>whey proteins</i>	69
5.10.1	Dose de <i>whey proteins</i> e preparo da solução padrão	69
5.10.2	Adaptação à gavagem	71
5.10.3	Sessões de gavagem	71
5.11	Coleta e análise da urina	73
5.12	Eutanásia	76
5.13	Coleta e análise do sangue	76
5.14	Morfometria	78
5.14.1	Análise histológica	79
5.15	Processamento e tratamento estatístico	80
6	RESULTADOS	81
6.1	Massa corporal total e relativa	82
6.2	Consumo de <i>whey proteins</i>	84
6.3	Testes de peso máximo carregado (PMC)	86
6.4	Análise dos parâmetros renais	90
7	DISCUSSÃO	110
8	CONCLUSÃO	120
9	FINANCIAMENTO / BOLSA	121
	REFERÊNCIAS	122
	ANEXOS	131
	APÊNDICES	133

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o consumo de proteínas com objetivo de hipertrofia muscular, tem crescido amplamente. Na literatura já é consenso que praticantes de treinamento resistido com objetivos de remodelamento muscular, devem consumir proteína diariamente em padrões adequados (Haraguchi, Abreu e De Paula, 2006).

Tais proteínas podem ter origens diversas (vegetal e animal) e velocidades de absorção variadas, no caso da proteína do soro do leite, comercialmente denominada de *whey proteins*, pode ser extraída da porção aquosa do leite durante o processo de fabricação de queijo e representa 20% do teor proteico do mesmo, possui aspectos nutricionais amplamente estudados ao longo das últimas décadas (Haraguchi, Abreu e De Paula, 2006; Krissansen, 2007; Tang e Phillips, 2009).

Sabe-se atualmente que o *whey proteins* é tido como fonte rica de proteínas de rápida absorção e que estimula a síntese proteica dos tecidos, devido ao aumento da concentração de aminoácidos no plasma (Pacheco et. al., 2006).

Em um estudo de Ha e Zemel (2003) também é destacado que o perfil de aminoácidos das proteínas do soro é muito similar ao das proteínas do músculo esquelético, fornecendo quase todos os aminoácidos em proporção similar às do músculo, classificando-as como um efetivo suplemento anabólico. Além disso, existe ainda a ação da proteína do soro do leite sobre a liberação de hormônios anabólicos, como a insulina, o que favorece a captação de aminoácidos para o interior da célula muscular (Sgarbieri, 2004).

Também é sabido que as *whey proteins* podem possuir altos teores de Aminoácidos de Cadeia Ramificada (*Branched-chain Amino Acids* - BCAAs), que afetam os processos metabólicos da regulação energética, favorecendo o controle e a redução da gordura corporal. Estudos mostraram que dietas com maior relação proteína/carboidratos ($1,5\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ e 120 a $200\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, respectivamente) são mais eficientes para o controle da glicemia e da insulina pós-prandial, favorecendo a redução da gordura corporal e a preservação da massa muscular durante a perda de peso (Layman et. al., 2003a; 2003b; 2004; Santesso et. al., 2012).

Diante dos benefícios indicados, o uso de *whey proteins* tem se tornado cada vez mais consumido (Cribb, 2005). Prova disso são os dados apontados pelo panorama financeiro do setor, indicando um aumento de 10% das vendas de

suplementos em 2016 (R\$ 1,49 bilhão de faturamento), com crescimento total do faturamento de 119% para a Indústria de Esportes e Nutrição no período de 2010 a 2016 (Brasnutri, 2017).

Entretanto, estudos também têm mostrado que as dietas com teor aumentado de proteína podem diminuir a taxa de filtração glomerular (TFG) de forma aguda (Viberti et. al., 1987; Chan et. al., 1988; Simon et. al., 1998; Frank et. al., 2009) e de forma crônica em indivíduos saudáveis com função renal normal, em estudos de 6 meses com dieta hiperproteica (Skov et. al., 1999; Juraschek et. al., 2013).

Embora não exista consenso na literatura científica para inferir que dietas hiperproteicas sejam responsáveis por causar prejuízos à função renal em indivíduos saudáveis, há indícios de aumento da Proteinúria e hipertrofia renal (Williams, 2005; Tipton, 2011).

A diminuição da TGF ($< 90\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$) é indicativa de prejuízo da função renal que a longo prazo pode causar um quadro de Doença Renal Crônica (DRC), que consiste em lesão renal, lesão esta que leva à perda progressiva e irreversível da função renal com distúrbios glomerulares, tubulares e endócrinos (Morsch e Veronese, 2011).

Em sua fase mais avançada (estágio 5, $\text{TGF} < 15\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$) é chamada de Insuficiência Renal Crônica (IRC) ou falência renal, onde o tratamento é feito por meio de terapias renais substitutivas, como: Diálises (hemodiálise ou diálise peritoneal) e Transplante Renal (Morsch e Veronese, 2011; Bareiss, Dickenmann e Burkhalter, 2014).

Atualmente, a DRC tem níveis bastante elevados de incidência e prevalência, e constitui relevante problema de saúde pública não só no Brasil em virtude do seu exponencial aumento nas últimas décadas (Romão Junior, 2004; Sesso et. al., 2016).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), no Censo de 2016 apenas 309 unidades especializadas (41%) responderam ao questionário. As estimativas nacionais de incidência e prevalência de pacientes em tratamento de diálise giraram em torno de 596 e 193 por milhão da população (pmp), respectivamente. Dos pacientes prevalentes, 92% estavam em tratamento de hemodiálise e 8% em diálise peritoneal, e 29.268 (24%) aguardavam transplante em fila de espera. A taxa anual de mortalidade bruta foi de 18,2% (Sesso et. al., 2017).

Dos 39.716 (193 pmp) pacientes incidentes que iniciaram tratamento em 2016, sendo 41% do total devido à nefropatia diabética e 19% respondeu a região

Nordeste. A SBN ainda afirma que a estimativa de novos casos foi maior que em 2015, tendo a mesma tendência ao aumento desde 2012 (Sesso et. al., 2017).

Pode-se relacionar a DRC com alterações em quase todos os sistemas: nervoso (encefalopatias, disfunção autonômica e alterações psíquicas), cardiovascular (hipertensão arterial sistêmica, miocardiopatia, insuficiência cardíaca e doença coronariana isquêmica), musculoesquelético (miopatias e hipotrofias musculares), endócrino/metabólico (hiperglicemia, dislipidemias e resistência à insulina) (Chesterton e McIntyre, 2005; Baumgaertel, Kraemer e Berlit, 2013; Wang e Mitch, 2014).

Em relação às alterações da DRC, no estágio avançado é comum a fibrose progressiva dos glomérulos e/ou túbulo-intersticial, hipóxia nos capilares peritubulares e conseqüentemente perda do funcionamento dos néfrons e atrofia dos túbulos renais independentemente da origem da doença (Eddy, 2005; Ruiz-Ortega, 2001).

Quanto à ingestão aumentada de proteínas e a eficiência do diagnóstico, deve ser levado em consideração na avaliação da função renal as influências da alta ingestão de proteínas, o volume muscular esquelético, contração muscular e estado de hidratação, diante dos marcadores comumente usados na prática clínica (Creatinina, Ureia e proteínas), haja vista que podem indicar resultados falso positivos de lesão renal, ou ainda serem marcadores tardios caso avaliados isoladamente (Gualano et. al., 2008a; Gualano et. al., 2008b).

Desta maneira, este estudo justifica-se pela necessidade de investigar os efeitos de doses variadas de *whey proteins*, sobre parâmetros bioquímicos e morfológicos relacionados à função renal em associação ao treinamento resistido de alta intensidade.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Whey proteins*

As *whey proteins* (ou proteínas do soro do leite), são obtidas a partir do processo de fabricação de queijos. Nesse processo, extrai-se o soro do leite a partir da coalhada, sendo esta rica em caseínas, resultando da coagulação do leite (Krissansen, 2007; Poppi et. al., 2015).

Suas propriedades podem variar conforme o tipo de leite usado (caprino, bovino ou ovino), tratamento/nutrição dos animais produtores do leite, qualidade do processamento industrial na fabricação do queijo e obtenção do soro (Smithers, 2008).

De acordo com Krissansen (2007), o conteúdo total das proteínas do leite corresponde a 80% de caseína e 20% de *whey proteins*, sendo amplamente vendido como suplemento nutricional, tendo alta popularidade no fisiculturismo.

Dentre os 20% correspondentes às *whey proteins*, a composição tem cerca de seis proteínas bioativas presentes em maior proporção: β -lactoglobulina, α -lactalbumina, glicomacropeptídeo, proteose-peptona-3, imunoglobulinas e albumina sérica bovina. Além destas, em menor proporção, são encontradas a lactoferrina e lactoperoxidase (Figura 1, pág. 22).

Porém, é sabido que dentre os componentes das *whey proteins*, apenas as seis principais proteínas bioativas são mais facilmente isoladas a partir do leite em quantidades suficientes para atender as necessidades comerciais (Huth, Dirienzo e Miller, 2006; Haraguchi, Abreu e De Paula, 2006).

As proteínas bioativas podem possuir atividade hormonal ou farmacológica, podendo modular determinada função fisiológica por meio de ligações a receptores específicos, induzindo assim uma resposta (Fitzgerald e Murray, 2006).

Assim, as proteínas bioativas presentes nas *whey proteins* variam quanto à função, podendo ter propriedades expressivas na redução dos riscos de doenças e/ou prevenção devido às aplicações funcionais em diferentes processos biológicos (Krissassen, 2007). como: efeitos sobre os ossos, músculos, sangue, cérebro, pâncreas, sistema imune, câncer, infecção, metabolismo, cicatrização, aprendizagem e envelhecimento (Figura 2, pág. 23).



Figura 1 – Percentual das proteínas componentes do leite
(Adaptado de Krissansen, 2007).

Dentre os benefícios mencionados (Figura 2, pág. 23), em um estudo com humanos as *whey proteins* demonstraram efeitos benéficos na redução da glicemia pós-prandial tanto para indivíduos normais, quanto para indivíduos com diabetes tipo 2, indicando cerca 21% de redução da glicemia (Frid et. al., 2005).

Em camundongos sedentários com diabetes induzida por estreptozotocina (60mg/kg), as *whey proteins* apresentaram efeitos de melhoria nos níveis de glicose e insulina, com dose de 100mg/kg administrada por 1 mês via gavagem. No mesmo estudo os camundongos diabéticos tratados com *whey proteins* tiveram reparo parcial das ilhotas de Langerhans (Sayed et. al., 2017).

As *whey proteins* também demonstraram efeitos benéficos na inibição de desenvolvimento de tumor maligno em modelo de indução com dimetil-hidrazina em camundongos. Os camundongos tratados com *whey proteins* apresentaram incidência mais baixa de tumor após 21 dias do que os camundongos alimentados com caseína ou com ração padrão (Bounous et. al., 1988).

Além disso, as proteínas bioativas do *whey proteins* também podem exercer função fisiológica na redução da pressão arterial. Em um estudo experimental como o de Costa et. al. (2005) houve uma diminuição da Pressão Arterial Sistólica (PAS) em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) tratados com *whey proteins*,

possivelmente em resposta à função da α -lactalbumina e β -lactoglobulina de inibição da Enzima Conversora de Angiotensina.



Figura 2 – Principais benefícios das *whey proteins* sobre processos biológicos (Adaptado de Krissansen, 2007).

Em adição a tal efeito, há relatos que a α -lactalbumina reduziu em média 23 mmHg, a β -lactoglobulina reduziu em média 31 mmHg e a Albumina Sérica Bovina reduziu 27 mmHg da PAS em ratos SHR. O mesmo efeito de redução foi também observado em humanos pré-hipertensos que consumiram 20g/dia de *whey proteins*, chegando a reduções de 11 mmHg da PAS e 7 mmHg da Pressão Arterial Diastólica (PAD) (Huth, Dirienzo e Miller, 2006; Fitzgerald e Murray, 2006).

Também a lactoferrina, um dos compostos bioativos das *whey proteins*, apresentou efeito renoprotetor em ratos Wistar que tiveram lesão renal aguda induzida por Crômio. Os ratos tratados previamente com lactoferrina por 14 dias (200 e 300mg·kg·dia⁻¹) apresentaram menor concentração dos marcadores de função renal e danos no tecido renal atenuados em comparação aos ratos não tratados com

lactoferrina. A lactoferrina demonstrou um efeito antioxidante diante do alto poder de nefrotoxicidade causado pelo envenenamento com Crômio, consequentemente sobrecarregando os rins (Hegazy et. al., 2016).

Devido aos variados benefícios à saúde relatados na literatura, o interesse comercial sobre o *whey proteins* passou a ser amplamente disseminado no mercado, ao ponto de que o consumo de suplementos comerciais proteicos com concentração de proteínas em torno de 80 a 90%, cresceu amplamente na população em geral, principalmente em meio aos praticantes de treinamento resistido, tanto que o panorama médio de crescimento do setor no mundo, aumenta 4,2% ao ano (Cribb, 2005; Duhan, Sleight e Hourigan, 2006; Krissansen, 2007).

A respeito da popularização do consumo de suplementos comerciais no Brasil, a Associação Brasileira dos Fabricantes de Suplementos Nutricionais e Alimentos para Fins Especiais destaca que o crescimento no setor foi influenciado pelo aumento no número de academias de ginástica, sendo ao todo 31.800 academias distribuídas no Brasil com cerca de 7.952 milhões de alunos. O segundo país com maior número de academias por habitante (Brasnutri, 2017).

Em soma ao aumento do número de academias, destaca-se também a mudança de comportamento da população na busca de hábitos saudáveis, corroborando assim para o aumento do interesse pelo consumo de suplementos, culminando em investimentos crescentes da indústria alimentícia no mercado de suplementos nutricionais (Brasnutri, 2017).

Em consequência, no Brasil o panorama do setor indicou crescimento de 2010 a 2016, saindo de um faturamento de 637 milhões de reais para 1,49 bilhão de reais (Brasnutri, 2017).

Adicionalmente, cerca de 54% dos domicílios brasileiros aderiram ao consumo de algum tipo de suplemento, com intenções de complementar a alimentação e/ou melhoria do quadro de saúde. Dentre os suplementos consumidos, 48% foram vitaminas e multivitamínicos, e 30% suplementos de proteínas e aminoácidos (Abiad, 2015).

No ramo esportivo, um dos motivos da popularização do *whey proteins* tem relação com o fato de ser um suplemento de rápida absorção e com alto valor biológico em comparação à outras fontes de proteína (Figura 3, pág. 25). O valor biológico elevado, significa dizer que o conteúdo proteico do *whey proteins* pode ser absorvido em velocidade superior à outras fontes de proteína, e por isso o uso por praticantes

de treinamento resistido com objetivos de hipertrofia muscular se tornou amplamente disseminado (Smithers, 2008; Poppi et. al., 2010).

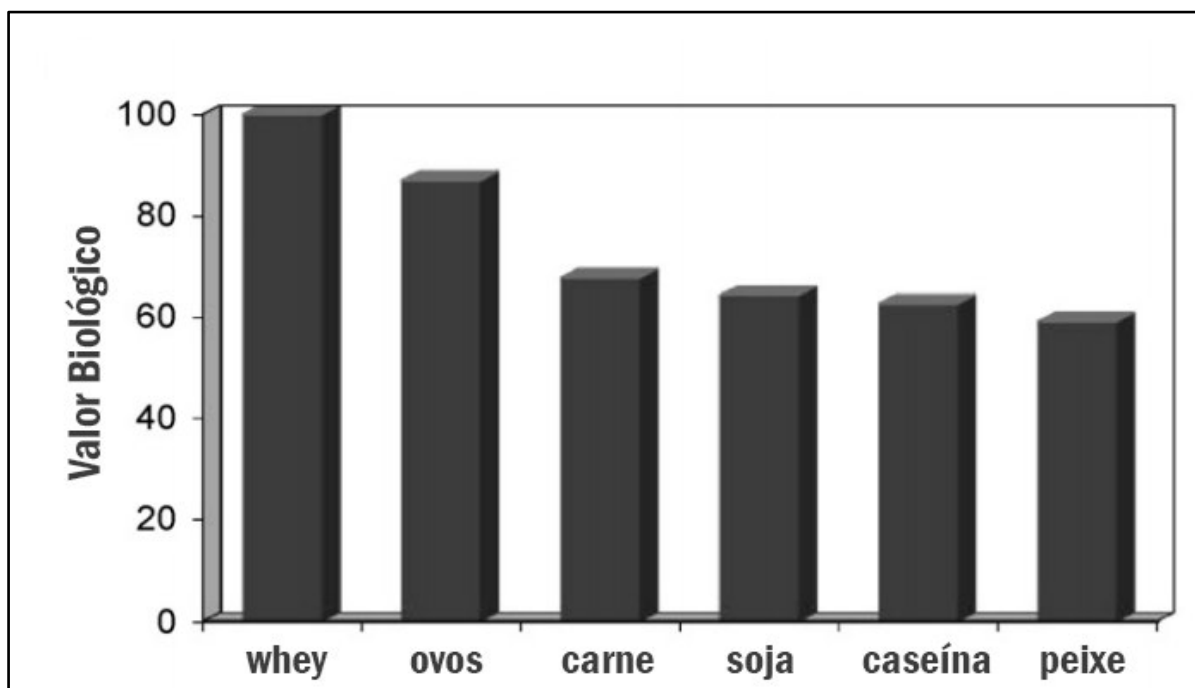


Figura 3 – Percentual de valor biológico do *whey proteins* em relação à outras fontes de proteína (Fonte: Smithers, 2008).

Porém, a popularização do *whey proteins* entre atletas não se deu apenas pelo alto valor biológico do suplemento, mas também por suas propriedades anabólicas e recuperativas. Isso se deu devido o perfil de proteínas do *whey proteins* ser similar às do músculo esquelético, sendo assim considerado um importante aliado de processos anabólicos, haja vista que também age sobre a liberação de hormônios anabólicos, como a insulina, possibilitando maior oferta de aminoácidos para o interior da célula muscular, além de ter propriedades inibidoras de peptidase (Ha e Zemel, 2003; Sgarbieri, 2004; Fitzgerald e Murrad, 2006).

Em adição, o *whey proteins* também é rico em aminoácidos essenciais de cadeia ramificada, como leucina, isoleucina e valina (BCAAs) tendo destaque em comparação com outras fontes, conforme ilustrado na Figura 4 (Pág. 26) (Smithers, 2008).

Sabe-se que a ingestão de aminoácidos é um importante estímulo para resposta anabólica no músculo esquelético, e quando associada ao treinamento resistido estimula de maneira independente a síntese de proteínas musculares (Pal e

Radavelli-Bagatini, 2012; Walker, et. al., 2011).

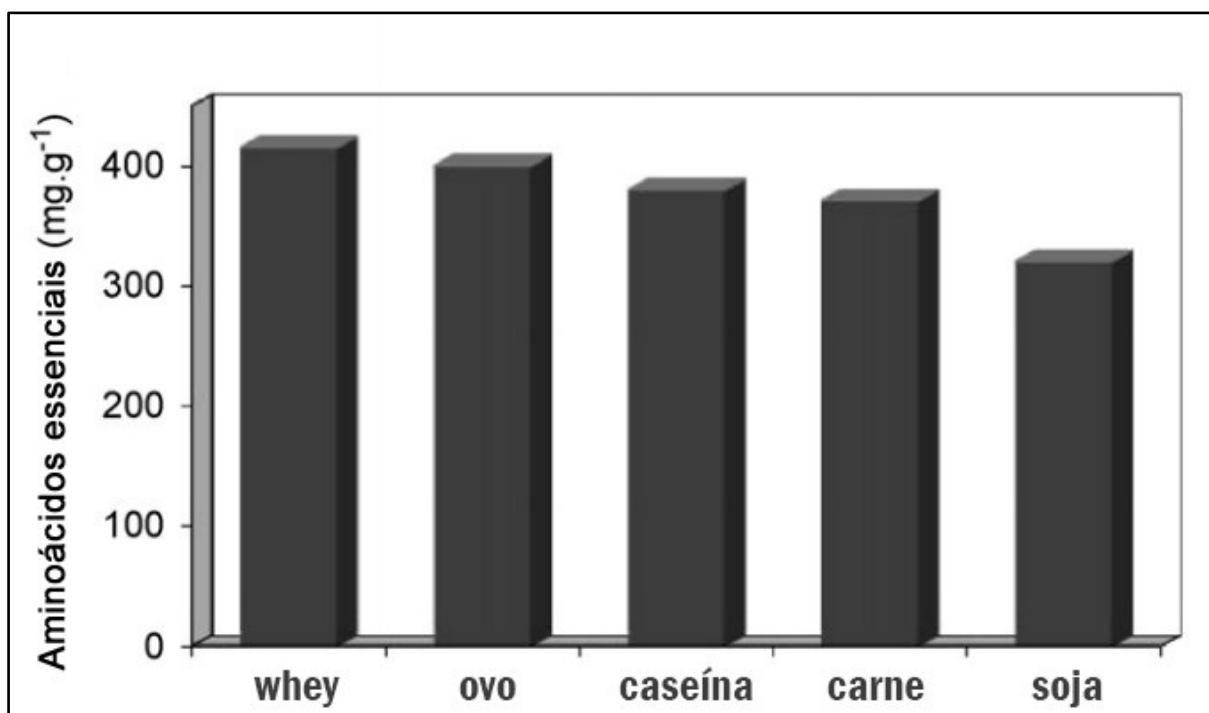


Figura 4 – Proporção de aminoácidos essenciais do *whey proteins* em relação à outras fontes de proteína (Fonte: Smithers, 2008).

A julgar que na tentativa de viabilizar aumento dos benefícios do suplemento (aumento da dose-resposta) a tendência seja de consumo de doses altas indiscriminadamente. Em motivo disso, a população em geral e também esportistas, em maioria não possuem conhecimento adequado sobre consumo de proteínas e necessidades nutricionais, relatando dúvidas desde o horário para utilização do suplemento, como quantidade e frequência para uso (Duran et. al., 2004).

Segundo Lemon (1998), a recomendação de consumo de proteína diária era estipulada em torno de 0,8 a 1,0g·kg·dia⁻¹ para pessoas sedentárias, corroborando com a Ingestão Diária Recomendada (DRI) para homens e mulheres adultos, sendo de 0,8 g·kg·dia⁻¹ de proteína de alto valor biológico (Food And Nutrition Board, 2006).

Enquanto que para atletas de resistência (*endurance*) 1,2 a 1,4g·kg·dia⁻¹ e para praticantes de treinamento resistido em torno de 1,6 a 1,8g·kg·dia⁻¹, podendo ser ainda mais elevada dependendo da intensidade do treinamento (Lemon, 1998).

Adicionalmente, para atletas de treinamento resistido de alto rendimento, principalmente os fisiculturistas, há relatos de que o consumo é superdimensionado,

podendo chegar a doses de 4,0 a 6,2g·kg·dia⁻¹ (Krissansen, 2007; Bacurau, 2009).

Porém, curiosamente, no estudo de Maestá (2008), fisiculturistas que suplementaram 1,5g·kg·dia⁻¹ e 2,5g·kg·dia⁻¹ tiveram resultados similares de ganho de massa muscular ao final de 4 semanas e o balanço nitrogenado acompanhou o consumo proteico significativamente, não apresentando alteração significativa no catabolismo. Indicando assim, que a ingestão de proteínas adequada para esses atletas deve ser superior ao recomendado para sedentários (0,8g·kg·dia⁻¹) e inferior a 2,5g·kg·dia⁻¹, e que uma maior ingestão de *whey proteins* não necessariamente significa aumento da dose-resposta para hipertrofia muscular.

Mesmo que para algumas modalidades, a ingestão aumentada de proteína possa ser interessante para o anabolismo e recuperação do músculo esquelético, existem também danos relatados quando a ingestão é excessiva, embora não sejam um consenso na literatura. Mas, em uma revisão dentre os danos mencionados estão o aumento da excreção de proteína (Proteinúria) e hipertrofia renal (Tipton, 2011).

Mas de acordo com Williams (2005), para atletas bem treinados o consumo de dietas ricas em proteínas não parece prejudicar a função renal, porém torna-se importante que indivíduos com alguma predisposição ao desenvolvimento de disfunções renais tenham certa atenção com a quantidade proteica da dieta. Para indivíduos já diagnosticados DRC o consumo aumentado de proteínas pode acelerar a deterioração renal por sobrecarga de excreção de Nitrogênio proteico pela Ureia, produto final da degradação de aminoácidos (Bernstein, Treyzon e Li, 2007).

Já em ensaios experimentais, Nunes (2013) submeteu ratos ao treinamento resistido (intensidade de 65% a 75%) e suplementação com dose diária de *whey proteins* de 1,8g·kg·dia⁻¹ durante 8 semanas e encontrou um efeito protetor da suplementação sob a função renal e hepática dos ratos treinados. No mesmo estudo, os ratos sedentários suplementados com a mesma dosagem apresentaram prejuízo da função renal e hepática, com marcadores renais (Creatinina e Ureia) e hepáticos significativamente elevados, embora não se tenha verificado a depuração (*clearance*) dos marcadores renais e balanço nitrogenado.

Também outro estudo com ratos que realizaram treinamento de natação com carga progressiva e que receberam dose diária de *whey proteins* de 4,1g·kg·dia⁻¹, o treinamento também proporcionou efeito protetor renal, apresentando menores valores de concentração de Creatinina sérica em comparação com os grupos

sedentários, porém nesse estudo também não foi avaliada a excreção da Creatinina e balanço nitrogenado (Chen et. al., 2014).

A respeito dos prejuízos renais, Williams (2005) também infere que as pesquisas sobre os efeitos ergogênicos da suplementação com *whey proteins* são limitadas e ambíguas, sendo consideradas preliminares para pesquisas mais aprofundadas e consistentes. Corroborando com Santesso et. al. (2012) e Martin et. al. (2013), que mencionam que o uso de altas doses de *whey proteins* com o objetivo de potencialização da ação anabólica no músculo esquelético precisa ainda ser verificado mais aprofundadamente.

Diante do exposto, descreveremos a seguir estudos experimentais sobre consumo de *whey proteins* em associação à modelos de treinamento e efeitos sobre marcadores renais.

2.2 Treinamento resistido, suplementação de *whey proteins* e avaliação da função renal

Em um estudo de Chen et. al. (2014), sobre efeitos de *whey proteins* em parâmetros bioquímicos de camundongos submetidos a treinamento resistido de natação durante 6 semanas, foram selecionados 40 camundongos machos, com peso corporal inicial de 26 a 28 g e idade de 4 semanas, foram divididos em 4 grupos sendo: controle sedentário (SC); sedentário suplementado com *whey proteins* (SC+WP); treinado com veículo (ET) e treinado suplementado com *whey proteins* (ET+WP). Os grupos suplementados receberam por gavagem uma dose de $4,1\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* (EAS 100% WP Vanilla) dissolvido em água destilada.

O protocolo de treinamento foi de natação com 5 dias iniciais de adaptação sem carga, já na segunda semana de treino com carga de 1% do peso corporal total (PCT) e da terceira a sexta semana de treino com carga de 2% do PCT, com duração de 60 minutos em cada sessão. Foram realizadas 5 sessões por semana durante 6 semanas de experimento. A oferta de água foi *ad libitum*, já para a ração não foi descrito como foi o controle de ração e reajuste de dose. Os marcadores foram analisados em equipamento automático (Hitachi® 7060, Tokyo, Japan) porém o autor não informa o método e reagentes.

Não houve diferença significativa na ingesta de água e ração, e na massa

corporal inicial entre os grupos, porém ao final do experimento, embora não tenha ocorrido diferença significativa na ingestão de água e ração entre os grupos, o grupo ET+WP teve massa corporal total final menor que o grupo ET ($p=0,0283$), também os grupos treinados (ET e ET+WP) tiveram menor massa corporal do que os grupos sedentários (SC e SC+WP) ($p=0,0021$).

A concentração sérica de Creatinina foi maior no grupo sedentário (SC) controle em relação ao grupo treinado não suplementado (ET) ($p<0,05$, o não autor informa o valor exato do p). A concentração sérica de Ureia no grupo sedentário e suplementado (SC+WP) foi significativamente maior em relação ao grupo ET e treinado suplementado (ET+WP) ($p<0,05$, o não autor informa o valor exato do p).

Também os níveis de Albumina sérica e Proteínas totais foram maiores em ET+WP do que em ET ($p<0,0001$) demonstrando que o consumo de *whey proteins* na dose $4\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ pode proporcionar aumento da concentração de proteínas no plasma sanguíneo, porém a urina não foi analisada.

Em relação ao efeito de *whey proteins*, o peso absoluto dos rins foi menor no grupo ET+WP em comparação com os grupos SC ($p=0,0362$) e SC+WP ($0,0281$) enquanto em relação ao efeito do treinamento não houve diferença significativa no peso absoluto dos rins. Porém, na análise histológica não houve atrofia glomerular, atrofia tubular ou expansão, não houve fibrose glomerular ou hipertrofia compensatória e não houve destruição da unidade medular.

Diante disso, Chen et. al. (2014) concluíram que a suplementação de *whey proteins* promoveu melhoria do desempenho no exercício, melhoria da composição corporal e parâmetros bioquímicos, sugerindo assim que os efeitos ergogênicos de *whey proteins* podem ser eficazes quando aliado à modelos de treinamento semelhante ao do estudo.

Em um estudo crônico de 12 semanas, Aparício et. al. (2011) investigaram o efeito do treinamento resistido e da suplementação de *whey proteins* em 32 ratos machos Wistar albinos, com massa corporal total inicial de $150\pm 8\text{g}$ (não informa a idade), divididos aleatoriamente em 4 grupos iguais ($n=8$): sedentários com dieta normoproteica (NP), treinados e com dieta normoproteica, sedentários com dieta hiperproteica (HP) e treinados com dieta hiperprotéica.

A formulação das dietas experimentais seguiu as recomendações do Instituto Americano de Nutrição (AIN-93M) para rações de roedores, tendo teor de 10% de proteína para a dieta normoproteica e 45% de proteínas para a dieta hiperproteica. A

fonte de proteína usada foi de *whey proteins* comercial (Dymatize® ISO-100, Farnes Branch, EUA).

Após o desenvolvimento da ração enriquecida, o teor total de N da dieta foi determinado por método *Kjeldahl* obtendo-se valores de $44 \pm 2,4\%$ de proteína na dieta HP e $11,7 \pm 0,4\%$ de proteína na dieta NP.

Inicialmente houve uma semana de adaptação, onde primeiro dia os ratos foram alocados em gaiolas metabólicas individuais, e permaneceram uma semana antes do início do período experimental. As gaiolas foram alojadas em ambiente controlado ($21 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo claro/escuro 12:12h).

Também durante a semana de adaptação, os ratos realizaram adaptação ao treinamento, com uma sessão durante todos os dias da semana, nos 3 primeiros dias sem carga e do 4º ao 7º dia com 20% da massa corporal, para familiarização dos ratos com a esteira rolante e o treinamento resistido.

Ao início do período experimental, o protocolo de treinamento resistido foi realizado em esteira rolante motorizada (Pantlab®, LE8710R), com as cargas amarradas na cauda. As sessões foram realizadas em dias alternados, a uma velocidade de 40cm/s constante durante as 12 semanas experimentais, porém o autor não informa como ocorreu o reajuste de carga ao longo do experimento e nem o incremento durante as sessões.

Durante todo o período experimental de 12 semanas, os ratos receberam água destilada e dietas experimentais *ad libitum* com consumo mensurado diariamente, e semanalmente foi realizado o registro da massa corporal total dos ratos, sempre no mesmo horário (8h da manhã) após 12h de jejum. O conteúdo total de proteína bruta consumida foi determinado por método *Kjeldahl* para determinação do nitrogênio proteico e cálculo através da fórmula $N \times 6,25$.

Após 89 dias de período experimental, foi realizada coleta de urina de 12h de cada rato para análise bioquímica. Foi mensurado o volume da urina de 12h e analisado o pH, citrato e cálcio urinário. O cálcio urinário foi determinado por espectrofotometria (Perkin Elmer®, Analyst 300, EUA), o pH foi determinado por pHmetro (Crison®, Barcelon, Spain) e o citrato por kit comercial (Boehringer Mannheim®).

Ao final do experimento, os ratos foram eutanasiados para a coleta de sangue por punção na aorta abdominal e separação do plasma para as análises bioquímicas. Dentre os marcadores renais analisaram a Ureia plasmática por analisador automático

(Hitachi®, Roche p800).

Como resultados, a ingestão diária média foi menor para os ratos que receberam HP do que NP ($p < 0,001$) e também menor nos treinados do que sedentários ($p < 0,001$). Podendo sugerir que o teor de proteínas da dieta exerceu efeito no consumo bruto de ração, tendo ainda efeito intensificado quando associado ao treinamento.

Na massa corporal final os grupos treinados apresentaram menores médias, principalmente para o grupo treinado NP ($p < 0,01$), sendo em consequência de uma interação dieta $\times$ treinamento, com maior redução de massa corporal nos grupos NP do que nos HP (-7,5% e -6,0%).

Sobre o peso dos rins, observou-se certa hipertrofia renal no grupo HP sedentário, com peso 58% superior ao sedentário NP, e 33% superior ao HP treinado ($p < 0,001$). Indicando um possível efeito deletério da dieta hiperproteica causando hipertrofia renal, sinal de acidose metabólica. Porém, o treinamento resistido demonstrou capacidade de atenuar a hipertrofia renal mesmo com dieta hiperproteica.

Diante dos possíveis efeitos metabólicos, a concentração de Ureia plasmática foi maior para os grupos HP do que nos NP, porém novamente o treinamento demonstrou efeito de proteção, apresentando menor concentração de Ureia do que os sedentários ($p < 0,001$). Houve então interação da dieta com treinamento, indicando maior redução da concentração de Ureia nos grupos treinados HP (-37,6%) ($p < 0,01$).

O volume de urina de 12h foi significativamente maior nos grupos HP ($p < 0,001$), e o pH urinário se apresentou mais baixo (Mais ácido) para os grupos HP ($p < 0,001$), o citrato urinário foi mais baixo nos grupos HP ($p < 0,001$) e o cálcio urinário também superior nos grupos HP do que NP ($p < 0,01$).

Os resultados de citrato e cálcio, podem indicar hipocitratúria e hipercalcitúria, que sugerem nefrolitíase, demonstrando assim que os ratos que receberam dieta hiperproteica apresentaram maior risco de desenvolvimento de cálculos renais.

Sobre resultados específicos do treinamento, o autor não informa dados relacionados.

O autor conclui que tanto os resultados urinários quanto plasmáticos, demonstraram acidose metabólica nos ratos que receberam as dietas HP, explicando assim a hipertrofia renal observada, porém o treinamento resistido demonstrou efeito protetor na hipertrofia renal e acidose, nos grupos HP treinados. Os possíveis mecanismos que explicariam tal efeito, podem ser que o treinamento pode reduzir a

inflamação renal e aumentar a velocidade de filtração glomerular, segundo Aparício et. al. (2011).

2.3 Suplementação de *whey proteins* e avaliação da função renal associada a outros modelos de treinamento

Lollo et. al. (2012) realizaram um estudo crônico de 4 semanas com 96 ratos machos Wistar submetidos a treinamento aeróbico, com idade inicial de 21 dias, e massa corporal de $133,83 \pm 5,6g$ e os dividiu aleatoriamente em 16 grupos ($n=6$ cada), que receberam dieta AIN-93M (*American Institute of Nutrition*) com fonte de proteína caseína ou *whey proteins ad libitum*, adicionadas à leucina.

A divisão dos grupos caseína foram: 4 grupos sedentários (Controle; +3%Leucina; +4,5%Leucina e +6%Leucina) e 4 grupos treinados (Controle; +3%Leucina; +4,5%Leucina e +6%Leucina). Em mesmo modelo foi organizada a divisão dos grupos que receberam *whey proteins* (Ajimoto®, São Paulo).

Para o treinamento, os ratos foram selecionados após teste de adaptação na esteira, em que deveriam se manter correndo por 30 segundos. Cada semana de treinamento consistiu em 5 sessões, com aumento gradativo da intensidade: semana 1 – 20 minutos de duração a 15m/min; semana 2 – 30 minutos de duração a 20m/min; semana 3 – 45 minutos de duração a 22,5m/min; semana 4 – 60 minutos de duração a 25m/min.

Após as 4 semanas de experimento, foi medido o conteúdo total de proteína do diafragma e no soro foi medido marcadores hepáticos (AST, ALT), renais (Creatinina e Ácido Úrico) e de dano muscular (CK e LDH), por espectrofotometria (Kits Laborlab®, São Paulo). Nos marcadores hepáticos, renais e de dano muscular não houveram diferenças estatísticas entre os grupos.

Como resultados adicionais, embora a suplementação tenha demonstrado aumento da massa corporal, não causou aumento significativo do diafragma ($p<0,05$), mas apenas uma tendência quando o nível de adição de leucina foi de 4,5%. Porém, o conteúdo proteico do diafragma se mostrou aumentado ($p<0,05$). A suplementação de leucina em 6% foi mais eficaz no aumento dos níveis de MTOR (não informa o valor exato de p).

Diante dos resultados do estudo, o autor infere que a combinação de proteínas

do soro do leite e caseína, com leucina e exercício, foi eficaz na ativação da via MTOR no tecido do diafragma, tendo resultados mais eficazes quando o nível de adição de leucina foi de 4,5 a 6%.

O autor também afirma que a associação de diferentes fontes proteicas estimula a via MTOR principalmente aliada ao exercício, e nas doses utilizadas no presente estudo não se observou alterações nos marcadores hepáticos e renais (Creatinina e ácido úrico), nem nos indicadores de dano muscular.

Assim, é possível que a associação de proteínas do leite com leucina pode ser uma estratégia para aumentar a ativação da via mTOR e aumento do fornecimento de aminoácidos para síntese proteica no diafragma.

2.4 Suplementação de *whey proteins* em ratos e camundongos sedentários e avaliação da função renal

Em um estudo de Haraguchi et. al. (2009), sobre influência das *whey proteins* sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea, realizado com 32 *Rattus Novergicus Fisher* adultos (não informa a idade), com massa corporal inicial média de 209g, divididos igualmente em 4 grupos sedentários, sendo: um grupo controle com Dieta Padrão AIN-93M (C) composta por 140g/kg de caseína, 10g/kg de mistura vitamínica, mistura salina 35g/kg, óleo de soja 40g/kg, colina 2 g/kg, celulose 50 g/kg e amido de milho 723g/kg; um grupo Hipercolesterolemiantes (H) que possuiu as mesmas características da AIN-93M, a não ser para o óleo de soja (250g/kg), o colesterol (10g/kg) e o amido de milho (503g/kg); um grupo de dieta modificada com *whey proteins* (100% *whey proteins* – Optimun Nutrition®) (PS), que teve a mesma composição da AIN-93M, exceto pela substituição da fonte proteica (140g/kg); e um grupo de dieta modificada com *whey proteins* e Hipercolesterolemiantes (PSH) que teve as mesmas características químicas da dieta do grupo H, exceto na fonte proteica (140g/kg).

A administração foi *ad libitum* para água e dietas experimentais durante 8 semanas, e houve mensuração semanal da massa corporal total. Embora os grupos H e PSH tenham consumido uma menor quantidade de ração por semana, o ganho de massa corporal absoluta foi maior em relação ao C e PS, respectivamente ($p < 0,05$, informa apenas a significância).

Os marcadores foram analisados por método colorimétrico e enzimático (Labtest®). Houve diferença significativa ($p < 0,05$, informa apenas a significância) nos marcadores séricos Proteínas totais e Albumina devido ao efeito das dietas para todos os grupos, porém não houve diferença significativa entre os grupos, tendo assim comportamento semelhante dos marcadores em todos os grupos.

A concentração de Creatinina sérica estava maior no grupo H do que em C, PS e PSH, devido a interação da dieta com o tratamento ($p < 0,05$, informa apenas a significância), porém quando a dieta de Proteínas do Soro (PS) foi comparada com a dieta Proteínas do Soro e Hipercolesterolemiantes (PSH) esse efeito não foi observado, ou seja, a concentração de Creatinina sérica foi afetada pela dieta Hipercolesterolemiantes, indicando um possível efeito deletério na função renal dos camundongos tratados por ela.

Os pesos dos rins e a concentração de Ureia sérica não tiveram diferenças significativas entre os grupos.

Haraguchi et. al. (2009) conclui que *whey proteins* não apresentou efeito hipercolesterolemiantes nos ratos, porém impediu que houvessem alterações nos marcadores de função renal em consequência da dieta Hipercolesterolemiantes.

Conforme Dos Santos et. al. (2016) em estudo realizado com 28 ratos machos da linhagem Wistar e sedentários, com idade inicial de 90 dias e Massa Corporal Total em gramas de 327 ± 24 , foram distribuídos em 5 grupos tratados por 4 semanas: controle tratado com água (C), dose de $0,45 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* (WP1), dose de $1,8 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* (WP2), dose de $0,675 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ de leucina (LEU1) e dose de $1,350 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ de leucina (LEU2).

A *whey proteins* foi diluída em água destilada em volume de 10mL/kg de massa corporal, administrada por gavagem uma vez por dia, sendo reajustada proporcionalmente à massa corporal dos ratos, para isso foram pesados duas vezes por semana. Os marcadores bioquímicos foram analisados por método cinético de dois pontos (Labtest®). Durante o experimento a água e ração foi ofertada *ad libitum*, sendo mensurado o consumo diariamente.

O consumo alimentar diário médio dos grupos WP1 e WP2 foi estatisticamente menor do que o grupo controle ($p < 0,001$) enquanto LEU1 teve menor consumo do que o Controle e LEU2 ($p < 0,001$), indicando assim efeito do tratamento sob o consumo alimentar, causando diminuição do consumo da ração devido ao aumento da oferta de proteína ou leucina.

A massa corporal total inicial entre os grupos C, WP1 e WP2 não teve diferença significativa, e na massa corporal total final o grupo WP2 foi maior do que o C, indicando efeito da dose sobre o consumo alimentar ($p < 0,001$). Nos grupos que receberam leucina, somente LEU2 teve massa corporal final maior que a inicial ($p < 0,001$) e teve massa final estatisticamente maior do que o Controle (não informa o valor de p).

Somente os grupos suplementados com leucina apresentaram mudanças nos marcadores renais. Na Creatinina sérica LEU1 e LEU2 teve menor concentração sérica do analito em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$, informa apenas a significância), enquanto que na Ureia LEU1 teve concentração sérica estatisticamente menor do que LEU2 e Controle ($p < 0,05$, informa apenas a significância).

As doses de $0,45\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}$ e $1,8\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}$ de *whey proteins*, não demonstraram efeitos sobre os marcadores de Ureia e Creatinina séricas ($p > 0,05$, informa apenas a significância), demonstrando que as doses administradas aos grupos WP1 e WP2 não causam prejuízos renais, porém o estudo não analisou a excreção dos analitos.

Desta maneira, o autor conclui que não houve aumento da concentração da Creatinina e Ureia sérica, tanto para os grupos suplementados com *whey proteins* quanto para os grupos suplementados com Leucina, indicando assim que não resultam em danos renais.

Costa et. al. (2005) verificou em seu estudo o efeito das *whey proteins* sob a pressão sanguínea de Ratos Espontaneamente Hipertensos (SHR) sedentários, com massa corporal total inicial de 270 a 300g, com livre acesso à ração padrão e água.

Os ratos foram divididos em 3 grupos: 6 ratos que receberam solução veículo intraperitoneal (*ip*) ($0,15\text{ M NaCl}$); 6 ratos tratados com captopril *ip* (10mg/kg) e 8 ratos tratados com 1g/kg de *whey proteins ip* em volume de 1mL .

Os ratos foram pesados e alojados em gaiolas metabólicas, passando por um procedimento 14h antes da coleta de urina: cada rato recebeu $\text{LiCl}/100\text{g}$ (Cloreto de Lítio) via gavagem. Após jejum noturno receberam gavagem com água (5% da massa corporal), seguindo por mesma carga 1h após. Passados 20 minutos da segunda gavagem de água, foi administrado *ip* os solutos correspondentes para cada grupo (NaCl , *whey* ou captopril), iniciando assim a coleta de urina durante 2h.

Após 2h da administração *ip* foi mensurada a PAS dos ratos utilizando um eletroesfigmomanômetro, uma abordagem indireta com boa correlação ($0,975$) com métodos diretos. Ao final, o sangue foi coletado por punção cardíaca.

No plasma e urina foram medidos o sódio, potássio e lítio por fotometria (Micronal® B262, São Paulo). A Creatinina foi mensurada espectrofotometricamente (Genesys® V, EUA) e a osmolaridade do *whey proteins* com um osmômetro (Advanced Instruments®, EUA).

A administração *ip* de *whey* diminuiu de forma dose-dependente a PAS 2 h após administração de 0,5 g/kg de *whey* ($p=0,001$) e 1,0g/kg ($p=0,0018$) em comparação ao controle veículo que recebeu *ip* NaCl a 0,15 M.

A depuração da Creatinina diminuiu significativamente ($p=0,0084$) no grupo tratado com *whey proteins* em comparação com o controle veículo e tratados com captopril.

A administração *ip* de 1,0g/kg de *whey proteins* também diminuiu a excreção fracionada de sódio para $0,021 \pm 0,019\%$ em comparação com $0,126 \pm 0,041$ e $0,66 \pm 0,015\%$ em ratos controle e tratados com captopril, respectivamente ($p=0,033$). Da mesma forma, a excreção fracionada de potássio em ratos tratados com *whey proteins* ($0,25 \pm 0,05\%$) foi significativamente menor ($p=0,0063$) do que no controle ($0,91 \pm 0,15\%$) e ratos tratados com captopril ($1,24 \pm 0,30\%$), respectivamente.

Também foi realizado no mesmo estudo um ensaio *in vitro* para verificação do efeito do *whey proteins* sob a atividade da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) utilizando de eletroforese capilar.

Diferentes concentrações de solução de *whey proteins* diluído em borato de sódio foram misturados com ECA e adicionadas a hipuril-L-histidil-L-leucina, um peptídeo sintético que simula a reação com a ECA e forma ácido hipúrico. As soluções com diferentes concentrações de *whey proteins*, foram injetadas em capilar de sílica, com valor de concentração da solução de *whey proteins* necessário para inibir em 50% (IC50) o pico de ácido hipúrico, indicando inibição de 50% da atividade da ECA.

Como resultado do estudo *in vitro*, observou-se que a concentração de ácido hipúrico diminuiu à medida que a concentração de *whey proteins* aumentou, confirmando uma inibição moderada da ECA pelo *whey proteins* no $IC_{50}=0,68\text{mg/mL}$, evidenciando assim um efeito hipotensor.

Já é sabido que compostos do *whey proteins* como a α -lactalbumina e β -lactoglobulina, precursores de α -lactorfina e β -lactorfina, têm efeitos de inibição da atividade da ECA e capacidade de ligarem-se aos receptores opioides, tendo ação vasodilatadora. Explicando assim os resultados de diminuição da PAS em ratos SHR tratados com *whey proteins*. Além disso, sabe-se que as *whey proteins* são ricas em

cálcio, o que também pode ter relação com o efeito hipotensor observado.

Assim, Costa et. al. (2005) concluem que existe uma via envolvendo inibição da atividade da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) por meio dos efeitos do *whey proteins*, ainda necessitando de mais investigações utilizando também de análise plasmática da ECA e angiotensina II durante o pico hipotensor em ratos.

Segundo Franzen et. al. (2016), em seu estudo sobre dose de *whey proteins* e marcadores bioquímicos relacionados à composição corporal, realizado com 24 ratos machos Wistar sedentários, com idade de 80 dias, foram divididos em 3 grupos iguais sendo: grupo controle (CLT) com dieta padrão; grupo de dieta de cafeteria (CAF) composta de 60% de carboidratos, 20% de lipídios, proteínas 15% e 5% de outros constituintes; e um grupo de dieta com *whey proteins* concentrado (WPD) composta de dieta padrão enriquecida com 10% *whey proteins* (Probiótica®), caracterizando baixa dose proteica. O soro foi analisado automaticamente (Bio Systems® A25), porém não foi informado o método e reagentes utilizados.

A dieta foi administrada por ração (*ad libitum*) durante 8 semanas de experimento, mas não foi informada a quantidade total consumida de ração enriquecida em cada grupo, de modo que pudesse ser identificada a quantidade exata de consumo total de proteína.

A massa corporal dos grupos após 8 semanas foi significativamente maior do que o pré (CLT: $p < 0,05$, WPD: $p < 0,05$ e CAF: $p < 0,001$), também apresentando diferença entre os grupos (CLT vs. CAF: $p < 0,01$; WPD vs. CAF: $p < 0,001$).

Em questão ao foco na composição corporal, o autor verificou o Índice de Lee dos ratos, e apenas os grupos CLT e CAF apresentaram aumento significativos em relação ao pré ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente), sendo que o grupo CAF teve um ganho mais expressivo em relação do que os grupos WPD ($p < 0,01$) e CTL ($p < 0,001$).

Não houve diferença significativa de concentração de Creatinina e Ureia séricas quando comparados aos valores pré, não havendo também diferenças estatísticas entre os valores pós entre os grupos. Porém, o estudo não verificou a depuração dos analitos avaliados, por meio de análise de urina.

Desta forma, as baixas doses de *whey proteins* usadas no estudo não foram suficientes para causar prejuízos à função renal em ratos sedentários, mesmo que consumidas *ad libitum*.

Hegazy et. al. (2016) realizaram um estudo sobre o efeito renoprotetor da lactoferrina (Radiance Nutritional Company®, *New Zeland*), um dos componentes

bioativos do *whey proteins*, em ratos sedentários com lesão renal aguda (LRA) induzida por dicromato de potássio (PDC - Sigma® Aldrich Chemical Co., USA).

Para isso, foram selecionados 36 ratos albinos Wistar machos adultos, com massa corporal inicial de 200 a 250g, com livre acesso à ração padrão e água, distribuídos aleatoriamente em 6 grupos: controle tratado com salina por 14 dias (n=6), 200mg·kg·dia⁻¹ (n=6) e 300mg·kg·dia⁻¹ de lactoferrina por 14 dias (n=6), e grupos LRA tratados com 15mg/kg de PDC após 14 dias de salina (n=6), 200mg·kg·dia⁻¹ (n=6) e 300mg·kg·dia⁻¹ de lactoferrina por 14 dias (n=6).

24h após a injeção de PDC, foram coletadas as amostras de sangue via retro-orbital. O soro foi usado para análise de Ureia, Creatinina e proteínas totais (kits específicos Biodiagnostic®, Egypt). Após a coleta de sangue os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical.

Os marcadores séricos não apresentaram nenhuma diferença dos grupos controle tratados com lactoferrina (200 e 300mg·kg·dia⁻¹) em comparação ao grupo controle tratado com salina, demonstrando concentração sérica de Ureia, Creatinina e proteínas totais semelhante entre os grupos.

Porém, houve um aumento significativo ($p < 0,05$, não relata o valor exato de p) da concentração sérica de Ureia, Creatinina e proteína total dos ratos tratados com salina e PDC em comparação com o controle salina normal. Podendo ser devido aos efeitos nefrotóxicos do Crômio, na indução da LRA.

Contrapondo a isso, os demais grupos tratados previamente com lactoferrina e que receberam injeção de PDC, apresentaram níveis normais de concentração dos marcadores séricos em comparação com PDC e grupo salina normal. Indicando talvez um efeito protetor do tratamento prévio com lactoferrina, ao ponto de atenuar os efeitos do crômio na indução da LRA.

Os rins foram extraídos e pesados, em seguida fixados em formol 10% durante 72h após isso embebidos em parafina e cortados em micrótomo com 5µm de espessura e corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Foram confeccionadas 5 secções por grupo, e examinadas 10 campos por secção, sendo ao total 50 campos por grupo. As imagens foram obtidas em microscópio (Olympus CX31), e analisadas com base numa escala com graus de lesão renal de 1 a 4.

A partir disso, foi observado que nos grupos controle tratado com salina e com lactoferrina (200 e 300mg·kg·dia⁻¹) as estruturas glomerulares e tubulares estavam normais. Porém, no grupo tratado com salina e PDC foram observadas alterações

tubulares moderadas e graves (escore $3,60 \pm 1,14$) com lesões degenerativas, inflamatórias e hiperplásicas, sendo também observados congestionamentos dos capilares glomerulares causados por células epiteliais acumuladas, quem poderiam estar acompanhadas de leucócitos, sugerindo reação inflamatória.

Porém os grupos previamente tratados com lactoferrina (200 e $300\text{mg}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$) e PDC observou-se as alterações atenuadas, corroborando com os resultados de concentração sérica.

Porém, conclui-se que o pré-tratamento com lactoferrina nas doses de 200 e $300\text{mg}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ foi eficaz em proporcionar efeito renoprotetor sob a Lesão Renal Aguda induzida por Crômio, confirmada pelos resultados bioquímicos e histológicos em ratos Wistar. Tais resultados, podem ser devido às propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da lactoferrina, uma glicoproteína presente no *whey proteins* em pequena quantidade.

No estudo de Aparício et. al. (2014a), realizado com 120 ratos machos jovens da linhagem Wistar, com massa corporal inicial em gramas de 165 ± 8 , foram divididos igualmente em 2 grupos: grupo ração com *whey proteins* (WP) e grupo ração com soja (SP). As rações foram enriquecidas com 10% de proteína (*whey proteins* ou soja), caracterizando baixa dose. O autor não informa a quantidade total de consumo da ração durante as 12 semanas.

Os ratos foram alojados em gaiolas metabólicas, projetadas para coleta de seletiva de fezes e urina, durante as 12 semanas de experimento. As gaiolas permaneceram em ambiente com controle de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e controle do ciclo claro/escuro 12:12. Os ratos tiveram livre acesso às rações WP ou SP e água destilada, e o consumo foi mensurado diariamente. A massa corporal foi medida semanalmente no mesmo horário. Não houve diferença significativa da massa corporal final entre os grupos.

Ao final do experimento foi realizada análise do volume da diurese (não informa o tempo de coleta: 12h ou 24h) onde o grupo WP teve volume médio de 4,03mL e SP volume médio de 3,05mL. WP teve volume de diurese significativamente maior ($p=0,020$). Imediatamente após a mensuração do volume de diurese, foi realizada a medida do pH urinário (*pH-meter* Crison®, Barcelona, Spain) e os ratos que consumiram dieta WP tiveram pH mais ácido do que os que consumiram dieta SP ($p<0,001$), tendo valores médios de 6,34 e 6,72 respectivamente.

O pH urinário ácido demonstra boa capacidade de eliminação dos resíduos

metabólicos, indicando boa função renal, porém quando o pH ácido está associado ao aumento de minerais como Cálcio e diminuição do citrato, pode ser um indicador de Nefrolitíase. Aparício et. al. (2014a) verificou que os níveis de cálcio urinários também estavam mais elevados em WP ($p<0,001$) e de citrato urinário diminuídos ($p<0,001$).

Os marcadores sanguíneos foram analisados automaticamente (Hitachi-Roche® p800 e não apresentaram diferenças estatísticas na Ureia plasmática. Mas apresentaram diferença nas proteínas totais ($p<0,001$) em que o grupo da dieta com *whey proteins* (WP) teve concentração mais elevada do que SP, podendo sugerir que as *whey proteins* podem aumentar o conteúdo proteico na circulação.

O peso absoluto dos rins foi significativamente maior em SP ($p=0,015$). Se tratando da área glomerular (μm^2), não foram encontradas diferenças significativas que indicassem quaisquer alterações morfológicas.

Assim, Aparício et. al. (2014a) conclui que a o pH ácido da urina, aliado ao aumento do cálcio e diminuição do citrato urinário por efeito do consumo de *whey proteins* a longo prazo pode aumentar o risco de Nefrolitíase (cálculo renal). Porém ressalta-se que não houve alteração morfológica renal. Assim o autor sugere que pode ser mais interessante a inclusão de SP especialmente em casos de maior risco de Nefrolitíase. Porém, destacamos ainda que seria crucial a verificação desses efeitos em comparação a um grupo controle.

No estudo de Nebot et. al. (2014) realizado com 140 ratos Wistar machos, divididos em 4 grupos sendo: 45% de *whey proteins*, 10% de *whey proteins*, 45% de proteína de soja e 10% de proteína de soja, caracterizando proteína alta e normal. O protocolo teve duração de 12 semanas e a proteína foi fornecida através da ração. A massa corporal foi medida semanalmente, no mesmo horário e após jejum de 6 horas. Os ratos tiveram livre acesso a ração e água, e o consumo de ração foi medido diariamente. Não tiveram diferença significativa na massa corporal final entre os grupos.

A ingesta de ração foi menor nos grupos de proteína alta (45%) em comparação com as dietas de proteína normal (10%) independente da fonte de proteína (WP ou SP).

Sobre a proteína total consumida durante o experimento, os grupos com dieta a 10% e 45% de proteína da soja ou *whey proteins* consumiram em média 1,62 a 1,65g·kg·dia⁻¹ e 6,74 a 6,89g·kg·dia⁻¹ respectivamente, sendo significativamente

maior o consumo de proteínas nos grupos de alta dose (300% maior), independente da fonte proteica.

No 74º dia foi realizada coleta de urina de 12h para a análise de pH (*pH-meter* Crison®, Barcelona, Spain), cálcio e citrato, marcadores comumente usados no diagnóstico de Nefrolitíase.

O volume de diurese de 12h dos grupos tratados com *whey proteins* por 12 semanas em dose normal 10% ($1,62 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$) foi em média 3,92 mL e alta dose 45% ($6,74 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$) foi de 4,43mL. Sendo 36% mais elevado nos grupos com dieta alta de proteína ($p < 0,0001$).

O cálcio na urina foi 65% mais elevado para dieta alta e 60% mais elevado para os grupos com dieta *whey proteins* em comparação com a dieta de proteína de soja ($p < 0,01$). O citrato urinário foi 50% mais baixo para os grupos com dieta de proteína alta do que os grupos com dieta normal de proteína ($p < 0,0001$).

Em relação ao pH urinário tanto para dose normal quanto para alta dose os valores giraram em torno de 6,5 sendo caracterizado como um pH ácido. Porém o pH urinário foi 8% mais baixo (ácido) para os grupos de dieta com proteína alta em comparação aos grupos com dieta normal ($p < 0,0001$).

Unindo os fatores de pH ácido, cálcio elevado e citrato baixo, corroboram para possível nefrolitíase, para os grupos que receberam dieta com alta proteína (45%) independente da fonte proteica. Mas, para alguns marcadores os grupos que receberam fonte de proteína de soja tiveram resultados mais amenos.

Os marcadores sanguíneos foram analisados automaticamente (Hitachi-Roche® p800) porém o autor não informa os reagentes utilizados.

Houveram diferenças significativas ($p < 0,0001$) da Ureia plasmática quando comparados os grupos com dieta de 45% de *whey proteins* (HP) e 10% de *whey proteins* (NP), demonstrando que a concentração de Ureia plasmática foi 46% maior nos grupos HP suplementado com *whey proteins*. Porém os grupos que receberam proteína da soja, apresentaram valores mais baixos de Ureia plasmática em comparação aos grupos que receberam *whey proteins* ($p < 0,001$).

Desta maneira, no estudo de Nebot et. al. (2014) concluíram que dietas com teor de proteína de 45% poderiam ser mais eficazes do que dietas com proteína normal (teor de 10%), mesmo com o aumento da acidez de alguns marcadores como Ureia e pH, o autor indica que podem ser reduzidos caso a fonte seja proteínas de soja, por se tratar de fonte vegetal.

Athira et. al. (2013) em um estudo agudo sobre o efeito do *whey proteins* sob o estresse oxidativo, realizado com 24 camundongos albinos machos e sedentários, com massa corporal de 20 a 35g (não informa a idade), divididos em 5 grupos a seguir: Controle tratado com injeção intraperitoneal (*ip*) de água por 4 dias seguido de administração oral de água por 2 dias; Controle paracetamol tratado com água via *ip* por 4 dias seguido de administração oral de 300mg/kg de paracetamol por 2 dias; Preventivo tratado com 4mg/kg de *whey proteins* via *ip* por 4 dias seguido de administração oral de 300mg/kg de paracetamol por dois dias; Curativo tratado via oral com 300mg/kg de paracetamol por dois dias seguido 4mg/kg de *whey proteins ip* por 4 dias; Oral tratado com 8mg/kg de *whey proteins* via oral por 4 dias seguido de 300mg/kg de paracetamol via oral por 2 dias.

O paracetamol é um fármaco comum que em doses excessivas é indutora de estresse oxidativo e pode causar efeitos hepatotóxicos e nefrotóxicos. Por isso nesse estudo os pesquisadores utilizaram o paracetamol como ferramenta para induzir estresse oxidativo em camundongos, verificando assim os efeitos do *whey proteins* sobre o estresse oxidativo.

O estudo teve duração total de 7 dias e nesse período os camundongos tiveram livre acesso à ração padrão e água. Não houve controle de consumo da ração.

Ao sétimo dia os camundongos foram eutanasiados por deslocamento cervical, e a coleta de sangue foi realizada por punção cardíaca. O sangue ficou em temperatura ambiente durante a noite para coagular, e posteriormente realizaram a separação do soro.

Dentre os marcadores de interesse para o presente estudo, Athira et. al. (2013) analisaram no soro os marcadores bioquímicos de Alanina Aminotransferase (ALT), Fosfatase Alcalina (ALP), Creatinina e Nitrogênio Ureico (BUN) por espectrofotômetro (Kits Erba Diagnostics®, Mannheim, Germany).

Observou-se que os marcadores hepáticos e renais tiveram concentrações significativamente maiores nos grupos tratados com paracetamol do que no grupo controle (não informa o valor de p). Esses resultados indicaram que houve necrose hepatocelular e nefrotoxicidade.

Já nos camundongos tratados oralmente com *whey proteins* (8mg/kg) e depois receberam paracetamol, houve redução significativa dos marcadores hepáticos e renais, porém os camundongos que receberam *whey proteins ip* tiveram resultados significativamente menores dos marcadores renais e hepáticos do que os

camundongos tratados com *whey proteins* via oral.

Diante disso vale ressaltar que dietas ricas em proteínas tendem a proporcionar aumento da concentração de Ureia, devido à quebra das proteínas em aminoácidos, que são catabolizados no fígado formando assim amônia, sendo depositada no sangue em forma de Ureia e transportada para os rins para a excreção.

Nos resultados de BUN os grupos que receberam paracetamol tiveram menor concentração sérica do que o grupo controle ($13,85 \pm 1,20$ vs. $20,52 \pm 0,67$ mg/dL), porém quando a *whey proteins* foi administrada tanto oral quanto *ip* (preventivo e curativo) o BUN aumentou em comparação ao grupo controle, e foi significativamente maior do que nos grupos tratados com paracetamol.

Níveis altos de BUN no soro indicam mau funcionamento dos rins (excreção de resíduos prejudicada) e quando os níveis estão baixos indicam doença hepática (prejuízo na metabolização das proteínas), nesse sentido os resultados de BUN menores nos grupos paracetamol do que no controle, podem ser devido à hepatotoxicidade induzida pelo paracetamol.

Quando administrado o *whey proteins*, observou-se efeito oposto pois BUN aumentou para níveis normais semelhante ao grupo controle e foi significativamente maior do que os camundongos que receberam paracetamol, demonstrando assim que o *whey proteins* teve um importante efeito amenizador da toxicidade.

Desta forma, Athira et. al. (2013) concluem que *whey proteins* é um potente protetor contra a hepato-nefrotoxicidade induzida por paracetamol e pode ser eficaz quando usado em alimentos que promovem saúde como ingrediente biofuncional.

Adechian et. al. (2011) em seu estudo alocou 30 ratos Wistar machos em gaiolas metabólicas individuais durante todo o experimento em ambiente controlado (temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade de $50 \pm 5\%$ e ciclo claro/escuro 12h). Inicialmente os ratos tinham massa corporal em gramas de $315,3 \pm 1,8$ e foram aclimatados 4 dias antes tendo livre acesso a ração padrão e água.

Após os 4 dias de aclimação, os ratos foram alimentados com dieta rica em gordura e sacarose durante 5 semanas (dieta hiperlipídica), em forma semilíquida obtida de dieta em pó misturada com água. Nos 4 dias finais, foram coletadas as fezes e urina dos ratos para mensuração do balanço nitrogenado. Findada a primeira etapa, os ratos foram divididos em três grupos com massa corporal média em gramas igual ($420,5 \pm 8,6$; $420,5 \pm 8,8$ e $420,8 \pm 7,5$).

Então nas 3 semanas seguintes os ratos receberam quantidade limitada de

dieta rica em proteínas (dieta restrição), onde cada grupo recebeu dieta com fontes de proteína diferentes por grupo (n=10 cada): grupo caseína, grupo proteínas solúveis do leite (MSP) e grupo mistura (caseína+MSP).

A oferta limitada de dieta rica em proteína, teve como intuito representar uma dieta de humanos rica em proteína, mas de baixa caloria em período equivalente (3 semanas para ratos é equivalente a mais de 6 meses para humanos).

Durante as 3 semanas (21 dias) de experimento, foram coletadas fezes e urina diariamente sendo agrupadas por semana para mensuração do balanço nitrogenado. A massa corporal foi registrada 3 vezes por semana e o consumo da dieta foi registrado diariamente.

Nos resultados relatados, a ingesta de alimentos não teve diferença significativa entre os grupos no período de alimentação rica em gordura e sacarose. Durante a dieta de restrição energética foram observadas diferenças significativas entre os grupos na quantidade ingerida ($p < 0,05$, o autor não informa o valor exato de p), sendo essa diferença mais evidente entre os grupos mistura e MSP, porém os autores relatam que nos outros parâmetros analisados no estudo não houve diferença significativa entre os grupos mistura e MSP, indicando assim que a dieta não causou grande impacto fisiológico (não informa o p -valor).

Sobre as dietas, foi relatado que durante a dieta hiperlipídica não houve diferença na ingesta de proteínas entre os grupos, seguindo sem diferença até os 3 primeiros dias de administração das dietas ricas em proteínas e baixa energia. No entanto, dos dias 4 a 21 da dieta rica em proteína e baixa energia notou-se aumento significativo com consumo de proteína, tendo médias de consumo por grupo: mistura $3,51 \pm 0,04$ g/dia; caseína $3,33 \pm 0,02$ g/dia; MSP $3,16 \pm 0,03$ g/dia. Embora muito próximos esses valores foram significativamente diferentes, cerca de 5 a 10% (não informa o p -valor).

A massa corporal no período de dieta hiperlipídica, apresentou aumento gradativo durante as 5 semanas, com aumento médio de 6,3g/dia. Já quando iniciou a administração da dieta com restrição calórica e alta proteína, notou-se estagnação no crescimento dos ratos e diminuição de 7,5% da massa corporal. Porém, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (não informa o p -valor).

Também não houveram diferenças significativas entre os grupos nos pesos relativos de depósitos de gordura, fígado, músculos e rim.

Quando findado o período de restrição energética e dieta hiperproteica,

mensuraram no plasma o perfil de aminoácidos dos ratos, porém só houve diferença significativa na quantidade de leucina dos grupos caseína, sendo maior que MSP ($p < 0,05$, o autor não informa o valor exato de p), semelhantemente a fenilalanina do grupo caseína foi maior que MSP ($p < 0,05$, o autor não informa o valor exato de p). Nos marcadores plasmáticos glicose, insulina, triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL (kit comercial Horiba® ABX, França) não houveram diferenças entre os grupos (não informa o p -valor).

As coletas urinárias foram realizadas em 4 momentos: últimos 4 dias da dieta hiperlipídica e 1^a, 2^a e 3^a semanas da dieta de restrição energética e rica em proteína. O balanço nitrogenado quando comparado à dieta hiperlipídica, aumentou significativamente a excreção de proteína na urina (nitrogênio $\times 6,25$) na dieta com restrição mesmo na primeira semana, onde a ingesta de proteína foi mais baixa nos 4 primeiros dias da dieta com restrição (não informa o p -valor).

Não houve diferença significativa entre os grupos na excreção de proteína na urina (nitrogênio $\times 6,25$), apesar de ter tido diferença na quantidade de proteína consumida entre os grupos durante a dieta com restrição.

Quando comparado com o período de dieta hiperlipídica, a excreção fecal de proteínas (nitrogênio $\times 6,25$) no período de restrição foi significativamente reduzida na primeira semana, e depois aumentou na semana 2 e 3 em todos grupos. Também foi significativamente diferente entre os grupos durante as semanas 1, 2 e 3 da dieta com restrição, com maior valor de excreção fecal no grupo caseína, intermediário no grupo mistura e menor no grupo MSP (não informa o p -valor).

Sobre a digestibilidade estimada das proteínas ($= 100 \times [\text{proteínas ingeridas} - \text{proteínas excretadas nas fezes}] / \text{proteínas ingeridas}$) foi menor no grupo caseína (88%) do que nos grupos mistura e MSP (93%) (não informa o p -valor).

O autor também relata que o balanço nitrogenado foi estatisticamente mais reduzido na semana 1 de restrição energética do que no período de dieta hiperlipídica, embora tenha permanecido positivo em todos os grupos (não informa o p -valor).

Os dados também demonstram diferenças estatísticas constatando balanço reduzido na semana 2 de dieta restrição em comparação ao período de dieta hiperlipídica, tendendo ao aumento ($p = 0,06$) durante a semana 3 de restrição. Entre os grupos não houve diferença significativa na excreção fecal (não informa o p -valor).

O teor de nitrogênio na urina e fezes foi mensurado pelo método de Kjeldhal e o equilíbrio de proteína foi calculado com base na proteína ingerida e excretada na

urina e fezes (não informa o p-valor).

Também foi mensurada na urina a excreção de 3-metil-histidina (nmol) por μ mol de Creatinina, um marcador que serve como índice de degradação proteica do músculo esquelético a partir da concentração urinária. A excreção de 3-metil-histidina diminuiu durante a primeira semana de restrição somente para o grupo caseína, mantendo-se estável nos outros dois grupos. Nas semanas 2 e 3 de restrição os valores de excreção se mantiveram semelhantes em todos os grupos (não informa o p-valor).

Embora tenha ocorrido maior excreção fecal de nitrogênio, parece que foi compensada por diferenças na ingestão de proteínas, não sendo então suficiente para inferir diferenças o balanço nitrogenado.

Diante dos resultados apresentados por Adechian et. al. (2011), o autor relata a importância do fornecimento de quantidade de proteína suficiente para minimizar a perda de massa corporal durante período de restrição energética, mas parece que a natureza da fonte proteica não tem impacto sobre esses efeitos

Embora pareça que o metabolismo das proteínas possa se adaptar de forma diferente conforme a natureza das proteínas, haja vista que o objetivo do estudo foi comparar o efeito de uma proteína de absorção lenta (caseína) com uma de absorção rápida (MSP) sob a perda de massa corporal induzida por restrição energética.

Desta maneira Adechian et. al. (2011) concluem que em ratos obesos submetidos à restrição de energia, a fonte proteica não influenciou na retenção de proteínas no corpo.

2.5 Avaliação da função renal em ratos e camundongos treinados não suplementados

Em um estudo com duração de 4 semanas realizado por Lin et. al. (2015), verificou-se os efeitos do treinamento vibratório de corpo inteiro na performance física e nos marcadores bioquímicos em camundongos de meia-idade. O uso desse modelo de treinamento segundo o autor, demonstra efeitos de melhoria do desempenho como: aumento da força muscular, potência muscular e até mesmo efeito de aumento muscular.

Para essa investigação, foram selecionados 24 camundongos C57BL/6 de

meia idade (15 meses de idade), sendo aclimatados durante uma semana ao ambiente e dieta. Após a aclimação foram divididos aleatoriamente em 3 grupos iguais e com massa corporal em gramas semelhante: sedentários controle $33,6 \pm 0,7$ (SC), vibração baixa frequência $33,5 \pm 0,7$ (LV) e vibração alta frequência $33,8 \pm 0,4$ (HV). Os camundongos receberam água e ração padrão *ad libitum*, sendo registrados os valores de consumo diariamente durante as 4 semanas de experimento. Não houve suplementação com *whey proteins*.

Os grupos LV e HV foram expostos a vibração de corpo inteiro (WBV) numa plataforma de vibração específica (Body Green®, Qigong Master, BW760, Taiwan). A frequência de vibração para o grupo LV foi de 5,6Hz (pico de aceleração 0,13g) e para o grupo HV foi de 13Hz (pico de aceleração 0,68g). O treinamento de WBV ocorreu sob supervisão contínua tendo duração de 15 minutos por sessão, sendo 5 sessões realizadas por semana, durante 4 semanas de experimento. Todas as sessões de treinamento foram realizadas no mesmo horário.

Ao final das 4 semanas não foram observados efeitos do treinamento de WBV sob o consumo de alimentos, consumo de água e massa corporal final. Em sequência foram aplicados dois testes de desempenho: força de preensão e teste de exaustão no nado.

Dentre os testes de desempenho, verificou-se a força de preensão dos membros anteriores com um medidor de preensão específico (Model-RX-5, Aikoh Engineering®, Nagoya, Japão) após as 4 semanas de treinamento de WBV.

Foi então observado que os camundongos HV apresentaram maior aumento da força de preensão em comparação aos sedentários ($p=0,0193$) e sem diferença em relação a LV. Na análise de tendências observou-se aumento da dose-resposta em relação à frequência de treinamento WBV ($p=0,0009$). Sendo assim a alta frequência de vibração foi eficaz no aumento da força muscular em camundongos de meia idade.

Também após as 4 semanas de treinamento os camundongos foram submetidos a um teste de exaustão de nado com carga equivalente a 5% da massa corporal fixada à cauda, para analisar o tempo de resistência antes da exaustão. A exaustão foi determinada pela perda de movimentos bem coordenados e demora de 7 segundos para o retorno à superfície. Porém, não houve diferença significativa no tempo de nado (*endurance*) entre os grupos, mas apresentou tendência ao aumento do tempo a partir do aumento da frequência do treinamento de WBV ($p=0,0003$).

Dentre os marcadores renais avaliados, verificou-se as concentrações séricas de albumina, proteína total, nitrogênio ureico (BUN) e Creatinina, por meio de autoanalisador (Hitachi 7080®, Tóquio).

Tanto a albumina sérica quanto as proteínas totais no grupo controle foram significativamente menores do que nos grupos LV e HV ($p < 0,05$, não informa o valor exato de p), demonstrando tendência ($p = 0,0012$ e $p = 0,0407$, respectivamente) ao aumento da concentração conforme a frequência do treinamento de WBV.

Porém, para a Creatinina observou-se uma diminuição da dose-resposta com o treinamento ($p = 0,0020$), e o grupo HV apresentou menor concentração sérica do que o grupo sedentário ($p < 0,05$, não informa o valor de exato de p). Já o nitrogênio ureico (BUN) não se observou diferença estatística entre os grupos e não também não houve tendência de dose-resposta ao treinamento.

Após a coleta de sangue, os camundongos foram eutanasiados por deslocamento cervical. Os músculos gastrocnêmicos e sóleo foram extraídos e pesados, tendo o peso relativo determinado a partir da massa corporal final. Não houve diferença significativa do peso absoluto da soma dos músculos entre os grupos, não apresentando também tendência de dose-resposta ($p = 0,1087$). Porém o peso relativo da soma dos músculos foi significativamente maior em HV ($p < 0,05$, não apresenta o valor exato de p) em relação ao sedentário e LV. Houve também tendência de aumento do peso relativo dos músculos em dose-resposta à frequência de vibração do treinamento de WBV ($p = 0,0003$).

Os rins foram extraídos e pesados e o peso relativo dos rins foi determinado com base na massa corporal final. Não houve diferença no peso absoluto e relativo dos rins entre os grupos, não havendo também tendência ($p = 0,8189$ e $p = 0,8667$, respectivamente).

Em sequência, foram embebidos em formol 10%, parafinados, cortados em micrótomo a $4\mu\text{m}$ de espessura e corados com hematoxilina e eosina (HE). A análise foi realizada em microscópio equipado com câmera (BX-51; Olympus, Tóquio, Japão). Foram encontradas alterações leves no tecido renal, sendo apontados pelo autor como casados pela idade dos camundongos.

Em conclusão, Lin et. al. (2015) afirmam que o treinamento de WBV em baixa e alta frequência proporcionou melhorias de desempenho observadas pelo aumento da força de preensão e melhorias modestas do tempo de nado no teste de exaustão. Além disso, foi eficaz no aumento da massa muscular relativa, podendo sugerir

melhorias da composição corporal. e que embora tenham sido observadas alterações leves na morfologia renal, o marcador Creatinina se mostrou diminuído em resposta ao treinamento.

Aparício et. al. (2014b), resolveram investigar os efeitos do treinamento resistido de alta intensidade sobre a morfologia renal 20 ratos Wistar machos divididos igualmente em dois grupos: treinamento de alta intensidade (HIE) e sedentário.

Os ratos não foram suplementados com *whey proteins*, mas a ração teve como fonte proteica um isolado de proteína de soja, tendo como base a formulação recomendada pelo *American Insitute of Nutrition* (AIN-93) para ratos consistindo em 10% de teor de proteínas e tiveram livre acesso à ração e água destilada, porém não houve diferença na ingesta de ração entre os grupos. Já na MCT final o grupo sedentário foi significativamente maior ($p=0,009$) do que HIE.

Os ratos foram adaptados uma semana antes do início do experimento e em sequência foi realizado teste de 1RM para verificação do peso máximo carregado para determinação da intensidade de treinamento. A intensidade foi progressiva aumentando a cada semana, iniciando com 55% e finalizando o experimento com 85% de 1RM.

O protocolo de treinamento resistido foi de esteira rolante motorizada em velocidade constante de 35cm/s durante as 12 semanas, com 3 a 4 sessões por semana em dias alternados. O treinamento foi realizado no período escuro e cada sessão teve 10 séries com intervalo de 1 minuto. As cargas foram amarradas na cauda e tiveram reajuste semanal com base no 1RM, porém não informam no estudo os valores de ganho de força ao longo das 12 semanas.

Na 11ª semana do experimento os ratos foram alojados em gaiolas metabólicas em ambiente controlado para a coleta de amostra de urina de 12h. Analisou-se na urina o pH, cálcio e citrato. O cálcio urinário foi determinado por espectrofotometria (PerkinElmer® Analyst 300, USA). O pH foi determinado por pHmetro (Crison®, Spain), e o nível de citrato urinário foi determinado usando kit comercial (Spinreact® SA, Spain).

Os valores de volume de urina de 12h médios foram de 0,36 mL/h (4,32 mL) para o grupo HIE e de 0,23 mL/h (2,76 mL) para os sedentários. O grupo HIE teve volume de urina significativamente maior do que o sedentário ($p=0,025$).

Os valores de pH foram na ordem de 6,84 para o grupo HIE e 7,25 para o sedentário. Não houve diferença significativa nos pH, citrato e cálcio urinário.

É relevante inferir que a manutenção do pH ácido pode indicar melhor filtração e excreção adequada dos resíduos do metabolismo, mantendo o meio interno alcalino, pois dietas com teor de proteína elevado em condições normais o pH deve ser mais ácido, e não havendo diferenças na excreção de citrato e cálcio entende-se que não há indício de Nefrolitíase.

Também foram analisados os marcadores Ureia, Creatinina, proteínas totais, albumina e lactato desidrogenase no plasma usando analisador automático (Hitachi-Roche® p800). O grupo HIE teve maior concentração plasmática apenas de Ureia ($p=0,015$), enquanto que o grupo sedentário teve maior concentração de Creatinina ($p=0,001$). Não diferiram entre si nos marcadores de proteínas totais, albumina e lactato desidrogenase.

Em acréscimo sobre o estresse induzido pelo treinamento, o grupo HIE teve valores médios significativamente maiores para os marcadores creatina quinase ($p=0,027$) e corticoesterona ($p=0,004$).

Não houve diferença no peso dos rins, tanto em valores absolutos quanto em relativos. Histologicamente notou-se que o tecido conjuntivo intersticial foi 30% mais elevado em HIE ($p<0,05$), semelhantemente as áreas glomerulares foram significativamente maiores em HIE ($p<0,05$). A análise foi feita utilizando de algoritmos de processamento de imagem no software Fibrosis HR®.

Aparício et. al. (2014b) concluem que o exercício de alta intensidade proporcionou o efeito observado no estudo, ou seja, o estresse induzido pelo tipo de exercício utilizado no estudo pode ter sido responsável pelos efeitos deletérios na morfologia renal.

Peng et. al. (2012), investigou os efeitos do treinamento de natação em modelo de Doença Renal Crônica (DRC) induzida por doxorubicina em ratos Sprague-Dawley adultos com idade de 4 semanas e massa corporal de 220 a 250g.

Na primeira semana, 36 ratos Sprague-Dawley foram aclimatados em sala de animais com temperatura de $23^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, com ciclo claro/escuro de 12:12, e tiveram livre acesso à ração padrão e água.

Ao final da primeira semana os ratos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos iguais ($n=6$): sedentário normal, DRC sedentário, Natação 30 minutos, DRC + natação 30 minutos, Natação 60 minutos e DRC + natação 60 minutos.

Na segunda semana foi realizada a aclimação ao treinamento de natação com um protocolo de progressão de tempo de nado de 5 a 10 minutos, seguindo para

20, 30, 40 e 50 minutos por dia. Após a aclimatação ao nado, a DRC foi induzida com uma única administração subcutânea de 7,5mg/kg de doxorubicina.

O protocolo de treinamento de natação foi iniciado no dia seguinte à administração de doxorubicina. Ou seja, na terceira semana os ratos realizaram 3 sessões de natação de 30 minutos e 60 minutos por semana, durante 11 semanas.

A cada duas semanas foram coletados sangue e urina em gaiola metabólica durante as 11 semanas de experimento para análise bioquímica. A massa corporal foi medida semanalmente. Ao final os ratos foram eutanasiados e os rins foram pesados para cálculo da relação entre peso do rim e massa corporal, e análise histológica.

Em seguida os rins foram fixados em formol 10% em PBS (pH 7,4) a 4°C por 24h para preparação do tecido para análise histoquímica. Após as 24h os tecidos foram incorporados em parafina, e as secções em parafina foram desparafinadas em xileno e reidratadas em etanol. Os corantes utilizados foram hematoxilina de Weigert (Sigma-Aldrich®, EUA) e Sirius Red (Sigma-Aldrich®, EUA).

Dentre os marcadores investigados semelhantes ao usados no presente estudo, analisaram Nitrogênio Ureico (BUN), Albumina, Creatinina e Ácido Úrico, utilizando kits específicos (Roche®, Suíça) em analisador automático (Symex® K-1000, EUA).

Como resultados da massa corporal, o autor informa que o ganho de massa corporal para os grupos controle normais (sedentário, natação 30 minutos e natação 60 minutos) apresentou aumento semelhante, não havendo diferenças entre si. Os ratos com DRC induzida não apresentaram ganho de massa corporal por 11 semanas, porém na oitava semana apresentaram declínio da massa corporal (no estudo não informa o valor de P).

Os ratos com DRC induzida apresentaram inchaço nos rins devido a edema renal, apresentando valores médios de 0,33% para sedentário enquanto para os grupos sedentário+DRC, natação 30 minutos+DRC e natação 60 minutos+DRC os valores médios foram de 0,49, 0,67 e 0,59% respectivamente, apresentando melhor efeito para o treinamento de 60 minutos de natação (o estudo não informa o valor de P).

Também foi observada na aparência externa dos rins que os ratos normais tiveram rins com coloração mais avermelhada em comparação aos rins dos ratos com DRC induzida por doxorubicina, que tiveram aparência mais esbranquiçada. Além disso, foi encontrado grave inchaço em rins dos ratos com DRC e que treinaram por

30 minutos, contendo cistos com líquido, indicando que 30 minutos de natação não foi suficiente para atenuar os efeitos da DRC induzida, corroborando com os valores de peso do rim/kg de massa corporal (%) do mesmo estudo. Porém, para os ratos com DRC que treinaram por 60 minutos a aparência foi melhor, embora com inchaço a coloração foi menos esbranquiçada e sem a presença de cistos com líquido.

Os ratos normais apresentaram volume glomerular semelhantes entre si, porém os grupos com DRC induzida apresentaram maior volume glomerular do que os ratos normais. O grupo DRC sedentário apresentou maior volume glomerular em comparação com os ratos do grupo natação 30minutos+DRC e natação 60 minutos+DRC, demonstrando decaimento com o aumento do tempo de treinamento com valores médios de $1,54\text{mm}^3$ e $1,33\text{mm}^3$ respectivamente, indicando melhor resultado sobre o edema renal para os ratos que treinaram 60 minutos (o estudo não informa o valor de P).

O nível sérico de BUN aumentou até 94 mg/dL até a semana 11 nos ratos com DRC induzida. Mas a natação de 30 minutos não apresentou efeito de redução na concentração sérica de BUN, enquanto que a natação de 60 minutos apresentou redução parcial que se elevou somente até 48mg/dL, porém muito acima do valor para ratos normais 15 a 21 mg/dL até a semana 11.

A concentração de ácido úrico no sangue, não apresentou alterações causadas pelo efeito do exercício de natação, sendo todos os grupos considerados dentro da faixa de normalidade.

A DRC induziu aumento da Creatinina sérica ao longo do estudo, demonstrando aumento 1,0 a 1,1 mg/dL até a semana 11. O autor afirma que o exercício de natação não demonstrou nenhum efeito na restauração dos níveis de Creatinina em referência aos valores dos ratos normais 0,2 a 0,8mg/dL até a semana 11.

A DRC induziu também diminuição da Albumina sérica em todos os grupos com DRC induzida, tendo variação de redução ao longo das 11 semanas de 2,4 a 2,6 g/dL, e o exercício de natação não foi suficiente para restaurar os níveis em referência aos valores dos ratos normais 3,4 a 4,8 g/dL até a semana 11.

Os parâmetros urinários avaliados foram BUN, Creatinina e proteína, sendo eles parcialmente melhorados com o treinamento de natação até a semana 11. A Proteinúria no grupo DRC sedentário teve valor médio de 828 mg/dL, quando comparado com o grupo DRC+natação de 30 minutos o valor foi de 507 mg/dL e de

258 mg/dL para o grupo DRC+natação de 60 minutos.

A Creatinina na urina não apresentou diferenças entre os grupos apresentando valores médios de 51 a 72mg/dL, exceto para o controle normal que teve valor médio de 128mg/dL ao final, permanecendo semelhante aos valores iniciais de todos os grupos 125 a 143 mg/dL.

O exercício de natação demonstrou efeito de redução nos valores urinários de BUN, sendo que para o grupo DRC sedentário o valor médio foi de 247 mg/dL, porém para os grupos DRC+natação de 30 minutos e DRC+natação de 60 minutos foi de 198 e 140mg/dL.

A redução de massa corporal observada no estudo pode ter relação com a oferta limitada de aminoácidos da dieta padrão utilizada, além da associação aos efeitos deletérios da DRC que elevam o estado catabólico. Além disso, é observado que a doença causa redução dos níveis circulatórios de aminoácidos reduzindo assim o funcionamento do estímulo anabólico. Porém, observou-se que o treinamento de natação de 60 minutos proporcionou melhorias em parâmetros renais de ratos com DRC induzida por doxorubicina.

2.6 Biomarcadores de Função Renal

Dentre os muitos marcadores disponíveis para a mensuração da função renal, serão descritos a seguir os que são utilizados frequentemente na prática clínica, haja vista que o sumário de urina é o primeiro dos exames solicitados. Rico em biomarcadores que tratam de indicadores de processos biológicos ou patológicos com fins de diagnóstico ou monitorização (Sociedade Brasileira de Nefrologia, 2013).

2.6.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH trata-se de uma escala de medidas que mensura o nível de acidez ou alcalinidade (neutralidade) de uma solução. Na prática clínica o pH pode ser medido com um pHmetro, um equipamento específico composto com um eletrodo para a leitura do pH da solução analisada e também um potenciômetro para calibração do equipamento a partir do potencial hidrogeniônico de soluções padrão (SBN, 2013).

A avaliação do pH urinário é um marcador comum na prática clínica, também de baixo custo, conforme a Sociedade Brasileira de Nefrologia. Sendo muito

mensurado com tiras reagentes, consideradas um material de baixo custo e comum na prática clínica de avaliação dos aspectos físicos no sumário de urina (SBN, 2013).

O pH alterado, pode estar associado com desequilíbrios ácido-base, infecções urinárias, alterações da função renal e ingestão alimentar, como por exemplo dietas ricas em proteínas tendem a causar urina mais ácida. Porém, como pontos negativos dessa medida, o tempo entre coleta e medida pode influenciar no resultado assim como o armazenamento da amostra (Wu, 2010).

Seu uso como marcador renal é devido a uma das funções do rim de equilibrar o pH sanguíneo e manter o controle da osmolaridade. A regulação do pH sanguíneo é realizada durante o processo de filtração. Normalmente quando o filtrado glomerular segue para o Túbulo Contorcido Proximal ocorre a reabsorção de íons de hidrogênio, ácidos e água, seguindo para o ramo descendente da Alça de Henle onde ocorre reabsorção de água (20%). No ramo ascendente da Alça de Henle ocorre bomba de $\text{Na}^+ / 2\text{Cl}^- / \text{K}^+$, transporte de Na^+ e H^+ e reabsorção de $\text{Mg}^{++} / \text{Ca}^{++}$ (Piva, Garcia e Martha, 1999).

No Túbulo Distal ocorre reabsorção de NaCl (5%) / Na^+ / K^+ e água. Seguindo para o Ducto Coletor onde ocorre reabsorção de Ureia e equilíbrio ácido/base. Esses processos auxiliam no controle do pH sanguíneo que em padrões normais deve ser neutro (em torno de 7,4), enquanto a urina que é excretada deve ser mais ácida (pH 5,5 – 7,0). Quando a urina está mais alcalina, pode ser indicativo de comprometimento por infecções, porém quando está ácida de forma irregular pode ser devido ao aumento da secreção de H^+ devido à carga proteica (Piva, Garcia e Martha, 1999; Araújo et. al., 2009; Mundim, 2010).

2.6.2 Densidade

A Densidade (ou gravidade específica da urina) em adição às concentrações plasmáticas de Creatinina e Ureia, pode ser um indicativo da função renal tubular. Trata-se de uma mensuração geral da concentração dos solutos da amostra, tendo como princípio a relação entre a massa de determinado volume da amostra e a massa de um volume igual da água destilada. Ou seja, indica a capacidade do rim em diluir a urina por meio da capacidade renal de reabsorver substâncias e água. Quando essa capacidade de diluição, torna-se alterada, pode indicar comprometimento tubular (SBN, 2013; Mundim, 2010; Araújo et. al., 2009).

É amplamente utilizada na prática clínica por ser de baixo custo e leitura rápida, geralmente sendo aferida por refratômetro ou tiras reagentes para urina. Porém, é importante relacionar os valores de Densidade com o estado de hidratação para evitar falsos resultados de comprometimento tubular, desta forma a verificação da ingestão de água pode ser um fator extra a ser considerado na análise da Densidade urinária (Araújo et. al., 2009; Mundim, 2010).

2.6.3 Glicosúria

A glicose perpassa livremente pela Cápsula de Bowman, sendo quase toda filtrada. Em sequência é reabsorvida por transporte ativo através dos túbulos proximais e por isso o ideal é que haja uma quantidade quase nula de glicose na urina, a ponto de ser indetectável principalmente em tiras reagentes (SBN, 2013).

A presença de glicose na urina ou glicosúria pode ocorrer caso a reabsorção tubular seja insuficiente, fato que geralmente ocorre quando os níveis séricos de glicose estão entre 160 a 180mg/dL (SBN, 2013).

2.6.4 Proteinúria

A Proteinúria é considerado um marcador mais sensível e um indicador mais precoce em comparação às dosagens de Creatinina ou Ureia, pois a Creatinina e Ureia sérica ficam elevadas apenas quando 75% ou mais dos néfrons estiverem lesionados, enquanto a relação proteína/Creatinina aumenta desde os primeiros 25% de comprometimento dos néfrons (Lanis et. al., 2008; Hewitt, Dear e Star, 2004; Alves, 2004).

A presença de Proteinúria é um importante preditor de lesão renal glomerular, haja vista que em condições normais as proteínas não devem ser livremente filtradas pelos glomérulos, pois sua estrutura molecular é considerada grande o suficiente para perpassar a Cápsula de Bowman além de que as cargas negativas da membrana basal do glomérulo também retêm as proteínas, mesmo com a elevada pressão do glomérulo.

Quando há aumento da excreção urinária de proteínas, significa que podem haver alterações nas barreiras de filtração glomerular com danos nos podócitos, além de que quando as cargas negativas da membrana basal do glomérulo são de alguma

forma perdidas (nem sempre sendo possível notar histologicamente), algumas proteínas com baixo peso molecular (como a albumina) são filtradas e aparecem na urina e em pacientes com glomerulopatias existe correlação com a lesão histológica (Dieterle et. al., 2010; SBN, 2013).

Na prática clínica e laboratorial, é identificada inicialmente na urina com tiras reagentes (que geralmente são mais sensíveis à albumina) e caso detecte presença é recomendada a quantificação por método colorimétrico tendo como princípio a reação com vermelho de pirogalol (Morsch e Veronese, 2011; SBN, 2013).

Porém, o padrão ouro para quantificação da Proteinúria é por urina de 24h, mas pela dificuldade da coleta a preferencia tem sido pela amostra de urina isolada, sendo corrigida pela Creatinina pelo uso da Relação Proteína/Creatinina, que apresenta forte correlação ($r=0,9010$ e $r^2=0,569$) com os resultados de Proteinúria de 24h (Solorzano et. al., 2012; SBN, 2013).

2.6.5 Creatinina

A Creatinina é um marcador endógeno de avaliação da função renal amplamente utilizado na prática clínica. Porém, pode ser um marcador falho para indivíduos com grande volume de massa muscular (Kreider, 2017).

Sabe-se que a Creatinina é um derivado do metabolismo do músculo esquelético e de dietas com ingestão de proteínas elevada sendo liberada constantemente na circulação sanguínea, além de ser proporcional à massa muscular. É derivada da degradação da creatina, sendo esta obtida da dieta rica em proteínas (Figura 5) sendo a maioria da Creatinina (95%) encontrada no músculo esquelético (Gabriel, Nishida e Mastroianni, 2011; Kreider, 2017).

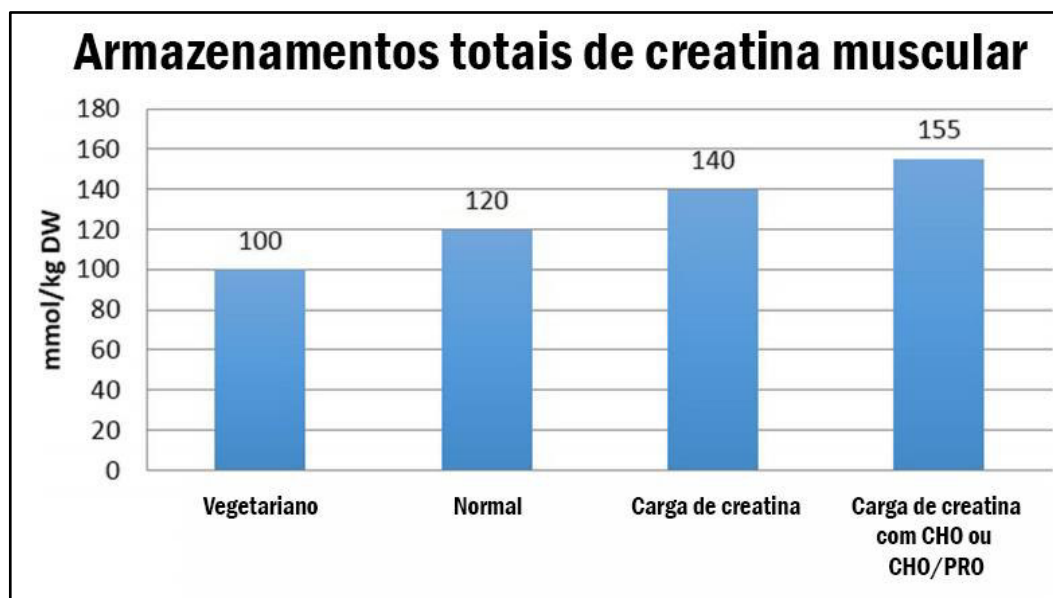


Figura 5 – Concentração aproximada de Creatina muscular total (mmol/kg DW de peso seco muscular) relatados conforme a dieta (Fonte: Kreider et. al., 2017).

De acordo com Gualano et. al. (2008a, 2008b) aproximadamente 1,7% da Creatina muscular é convertida em Creatinina espontaneamente durante o dia. Já para Kreider et. al. (2017), os valores de conversão de Creatina para Creatinina são de 1% a 2% ao dia.

Embora a Creatinina possa ser livremente filtrada pelos glomérulos renais devido ao seu baixo peso molecular (113 Da) e não seja metabolizada e nem reabsorvida pelos túbulos renais, uma parcela da Creatinina pode ser secretada nos túbulos renais, o que diminui a confiabilidade dos resultados relativos à taxa de filtração glomerular (Gualano et. al., 2008a; 2008b).

Porém, existem vantagens importantes na utilização da Creatinina como parâmetro de avaliação da função renal, pois para a prática clínica é mais acessível e de fácil manejo laboratorial, embora em caso de lesão renal aguda não seja o marcador mais indicado, pois detecta diminuições da Taxa de Filtração Glomerular apenas quando essa diminuição é superior a 50%, não sendo indicada assim para alterações rápidas na função renal (Prates et. al., 2007; Perrone, Madias e Levey, 1992).

Conforme a Figura 6 (Pág. 59), após a queda brusca da TFG há atraso de alguns dias para elevação da Creatinina Sérica, e também após a recuperação da TGF o declínio da Creatina é tardio (Moran e Myers, 1985; SBN, 2013).

Dentre os indicativos informados, o uso da Creatinina pode falsear os

resultados da Taxa de Filtração Glomerular. Como por exemplo, pelo aumento da massa muscular, exercício intenso e suplementação de creatina podem elevar os valores de concentração de Creatinina. Também estados de atrofia muscular podem reduzir os valores de concentração. Tanto que equações de estimativa da Creatinina têm sido desenvolvidas de modo que sejam considerados parâmetros como medidas antropométricas, sexo, idade e etnia, ou a normalização pela massa corporal (mg/kg) (Herget-Rosenthal, Bökenkamp e Hofmann, 2007).

Na prática laboratorial é quantificada pelo método picrato alcalino padronizado por Jaffé, podendo ter influências de substâncias extras como cetonas, proteínas e bilirrubina além de uso de alguns medicamentos que podem inibir sua secreção elevando o nível sérico sem necessariamente afetar a Taxa de Filtração Glomerular (Delanghe e Speeckaert, 2011; Gabriel, Nishida e Mastroianni, 2011; Jaffé, 1886).

A Creatinina também é frequentemente utilizada para determinação da TFG por meio da depuração em 24h, uma das diversas formas de determinação da função renal também denominada de *Clearance* (Figura 7, pág. 59).

A Creatinina além de filtrada ela pode ser secretada pelo túbulo proximal e por isso não é um marcador ideal para determinação da TFG, pois a substância ideal para determinar a taxa de filtração glomerular deve apresentar produção constante, não deve ter sua concentração influenciada por outras condições e deve ser livremente filtrada pelos glomérulos renais, e de preferência não ser absorvida ou secretada pelos túbulos (Gabriel, Nishida e Mastroianni, 2011; SBN, 2013).

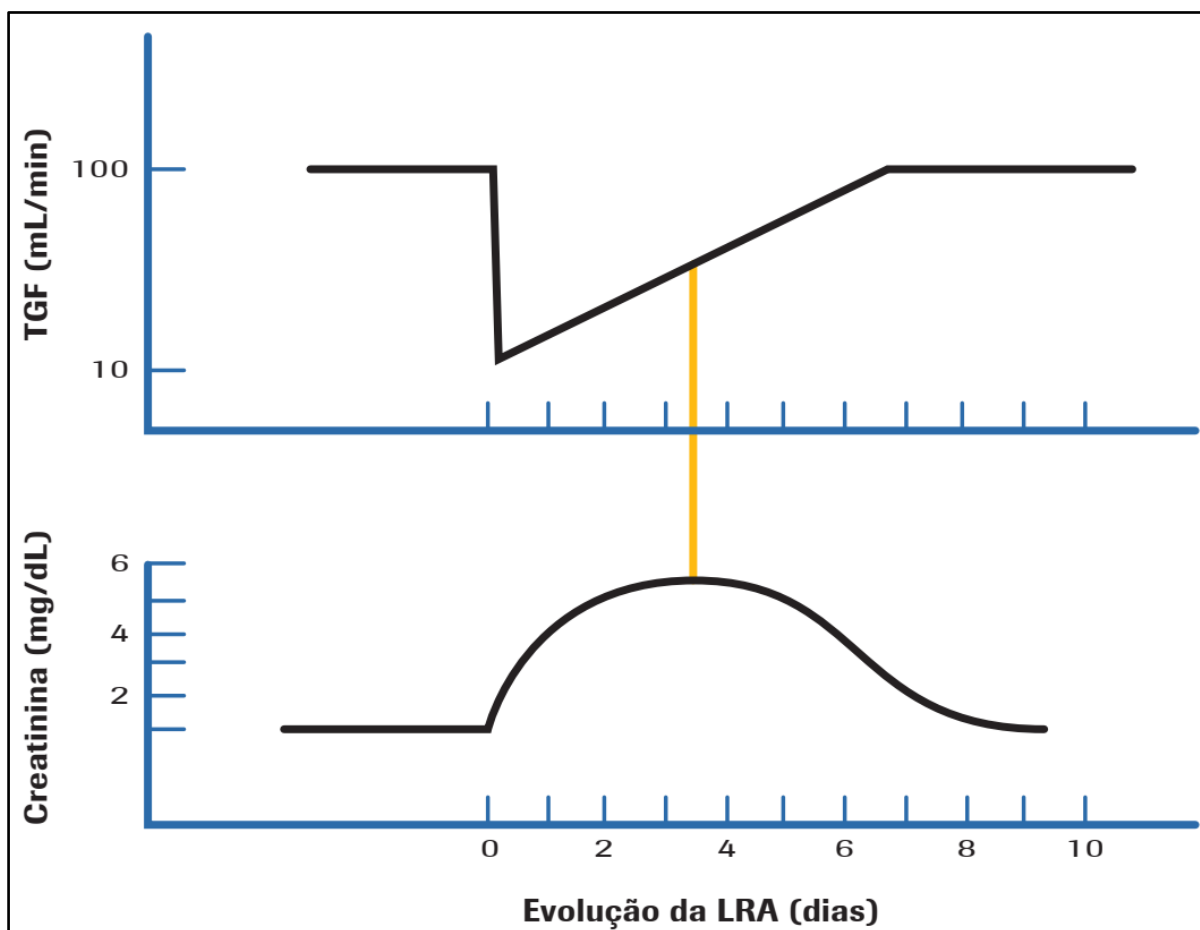


Figura 6 - Dissociação entre Taxa de Filtração Glomerular e Creatinina Sérica na evolução da Lesão Renal Aguda (LRA) (Fonte: Moran e Myers, 1985).

$$\text{Depuração} = \frac{U}{S} \times VM \text{ (mL/minuto)}$$

U: creatinina na urina (mg/dL)

S: creatinina (corrigida) no soro (mg/dL)

VM: volume minuto (volume urinário de 24 horas, em mL, dividido por 1440).

Figura 7 – Equação para determinação do *Clearance* (depuração) de Creatinina (Fonte: Labtest Diagnóstica).

2.6.6 Ureia

A Ureia é sintetizada a partir da Amônia, produto da degradação das proteínas, por meio do ciclo da Ureia que ocorre na matriz mitocondrial. Para isso a Amônia é transportada à mitocôndria hepática por meio do glutamato e glutamina até a matriz mitocondrial. Sendo 90% do conteúdo excretado em forma de Ureia pelos rins (Dusse et. al., 2015).

Por isso é um marcador dógeno usado para avaliação da função renal na prática clínica, baseando-se em técnicas colorimétricas com emprego da enzima uréase, causando degradação da Ureia em amônia e CO₂, reação amplamente disseminada por empresas laboratoriais em kits reagentes específicos (Dusse et. al., 2015).

A Ureia é amplamente filtrada pelos glomérulos, e parcialmente reabsorvida pelos túbulos (cerca de 50%) e excretada pelos rins. Desta maneira, altas concentrações de Ureia no sangue podem significar aumento da oxidação de aminoácidos sendo de origem tecidual ou alimentar, e/ou excreção afetada (Borges et. al., 2008).

Apesar de ser comumente usada para avaliação da condição renal, a Ureia é considerada inadequada como teste de função renal isolado, pois não é produzida constantemente durante o dia e sua concentração varia com a ingestão de proteínas. Ademais, a Ureia também pode diminuir sua concentração em decorrência de doença hepática ou desnutrição e por ser parcialmente reabsorvida a TGF é subestimada (SBN, 2013; Bazzano et. al., 2015).

Porém, na prática clínica a principal utilizada na Ureia é na determinação da Relação Ureia/Creatinina séricas tendo como nível de normalidade 30 (Dusse et. al., 2015).

2.6.7 Albumina e Proteínas totais

A Albumina é a proteína em maior abundância no plasma sanguíneo, sendo assim uma importante reserva proteica, correspondendo a 50% do total das proteínas do soro humano. Também tem função de transporte de substâncias na circulação como: ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina, e participa do equilíbrio ácido-base (Dos Santos et. al., 2004).

Diferente da Ureia, a Albumina é um indicador a longo prazo do estado proteico, enquanto a Ureia é um indicador imediato e sensível da ingestão de proteínas. Algo importante a se mencionar é que a concentração de Albumina na corrente sanguínea é afetada pela quantidade de proteínas da dieta e pela degradação proteica comum em algumas doenças, como exemplo na Doença Renal Crônica, e por isso é um marcador utilizado para acompanhamento do estado nutricional de pacientes (Quereshi et. al., 1998).

As lesões glomerulares e tubulares causadas pela DRC, comprometem a retenção das proteínas na circulação aumentando assim a filtração de proteínas e diminuição da reabsorção, levando a um estado denominado de hipoalbuminemia, sendo verificado em associação com a albumina sérica, proteínas totais e Proteinúria, indicadores de prejuízo na função renal e estado nutricional (Quereshi et. al., 1998; Dos Santos et. al., 2004).

3 HIPÓTESES

3.1 Hipótese Nula

- A dose de $2\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* não influencia na perda da função renal, tanto nos grupos submetidos ao treinamento resistido quanto nos grupos sedentários;
- A dose de $4\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* não influencia na perda da função renal, tanto nos grupos submetidos ao treinamento resistido quanto nos grupos sedentários;
- A dose de $6\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* não influencia na perda da função renal, tanto nos grupos submetidos ao treinamento resistido quanto nos grupos sedentários.

3.2 Hipótese Afirmativa

- A dose de $2\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* influencia na perda da função renal, tanto nos grupos sob treinamento resistido quanto nos grupos sedentários;
- A dose de $4\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* influencia na perda da função renal, tanto nos grupos sob treinamento resistido quanto nos grupos sedentários;
- A dose de $6\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* influencia na perda da função renal, tanto nos grupos sob treinamento resistido quanto nos grupos sedentários.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliar a função renal de ratos machos Wistar após doze semanas de treinamento resistido e suplementação em doses de 2, 4 e 6 $\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins*.

4.2 Específicos

Acompanhar, identificar, quantificar e avaliar os parâmetros:

- Consumo de ração e variação da massa corporal absoluta e relativa ao longo das doze semanas;
- Consumo total de proteína da ração e da suplementação ao longo das doze semanas;
- A força de ratos Wistar treinados ao longo das doze semanas;
- O volume de urina de 24h, pH, Densidade, Proteinúria e glicosúria em tiras reagentes após doze semanas;
- A Creatinina sérica e urinária de 24h após doze semanas;
- A Ureia sérica e urinária de 24h após doze semanas;
- A proteína total no soro e na urina de 24h após doze semanas;
- A albumina sérica após doze semanas;
- O Ácido Úrico sérico após doze semanas;
- A função renal estimada por equações de relação após doze semanas;
- A massa absoluta e relativa do rim após doze semanas;
- Os diâmetros glomerulares para obtenção do raio para análise de hipertrofia glomerular após doze semanas.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Revisão

Iniciamente realizou-se a busca em bases de dados especializadas: Scielo org, Lilacs, Dialnet, Medline/Pubmed e Web of Science. As palavras-chave foram definidas através dos descritores em saúde (DECs) cadastrados na plataforma Bireme.

As palavras-chave definidas para a busca foram: *whey proteins*, *strenght training*, *creatinine*, *urea*, *proteinuria*. Os termos de busca foram contruídos com combinações de três e duas palavras-chave, tendo a seguinte estrutura de formação: *whey proteins* + *strength training* + 1 marcador (*urea*, *creatinine* ou *proteinuria*); *whey proteins* + 1 marcador (*urea*, *creatinine* ou *proteinuria*); *strength training* + 1 marcador (*urea*, *creatinine* ou *proteinuria*).

Deste modo ao total foram utilizados 9 termos de busca em cada base de dados, sendo ao total encontrados 1118 documentos. Dentre eles 46 foram artigos

originais realizados *in vivo* com ratos ou camundongos.

Ao final, 15 artigos originais foram incluídos conforme fossem experimentos sobre *whey proteins*, treinamento e avaliação de marcadores de função renal. Os artigos foram organizados em 4 categorias, que foram descritos dos subtópicos 2.2 (Pág. 28) a 2.5 (Pág. 53).

5.2 Aspectos éticos

Os ensaios biológicos foram realizados de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA, 2012). O projeto de pesquisa foi submetido junto à Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA, da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, obtendo aprovação sob o número de registro: 23115.01804/2017-91 (ANEXO 1), estando assim de acordo com os padrões legais para uso de animais em procedimentos de ensino e/ou pesquisa, conforme Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008 e conforme as Resoluções Normativas do CONCEA (2015a).

5.3 Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa do tipo experimental básica, em um ensaio pré-clínico controlado e randomizado, com duração de doze semanas.

5.4 Período e local do estudo

Os procedimentos experimentais foram realizados no período de novembro de 2017 a outubro de 2018 no anexo do Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão – LAFIPEMA, localizado no Centro de Pesquisa de Pós-Graduação das Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís - MA.

No mesmo local, também foi utilizada a estrutura física do Biotério Setorial para devido alojamento dos animais em salas apropriadas e uso Laboratório Multiusuário para realização das eutanásias, previamente autorizado conforme termo de anuência (APÊNDICE 1).

5.5 Amostra

Foram utilizados no experimento 64 ratos pertencentes ao filo Chordata, subfilo vertebrata (*Rattus Novergicus Wistar Albinus*) com idade inicial de 60 dias, sendo caracterizados como adultos, com massa corporal total inicial de 250 a 350g, não possuindo alterações patológicas e morfológicas. Todos os ratos foram de procedência do Biotério Central de Criação da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Campus Bacanga, em São Luís-MA.

5.6 Divisão dos grupos

Os 64 ratos foram alocados em oito grupos, sendo os grupos sedentários: controle não suplementado $n=10$ (C), e suplementados com $2 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ $n=10$ (W2), $4 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ $n=7$ (W4) e $6 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ $n=5$ (W6); e grupos treinados em força: treinado controle não suplementado $n=10$ (TC), e treinados e suplementados com $2 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ $n=9$ (TW2), $4 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ $n=6$ (TW4) e $6 \text{ g} \cdot \text{kg} \cdot \text{dia}^{-1}$ $n=7$ (TW6). Conforme apresentado na Figura 8.

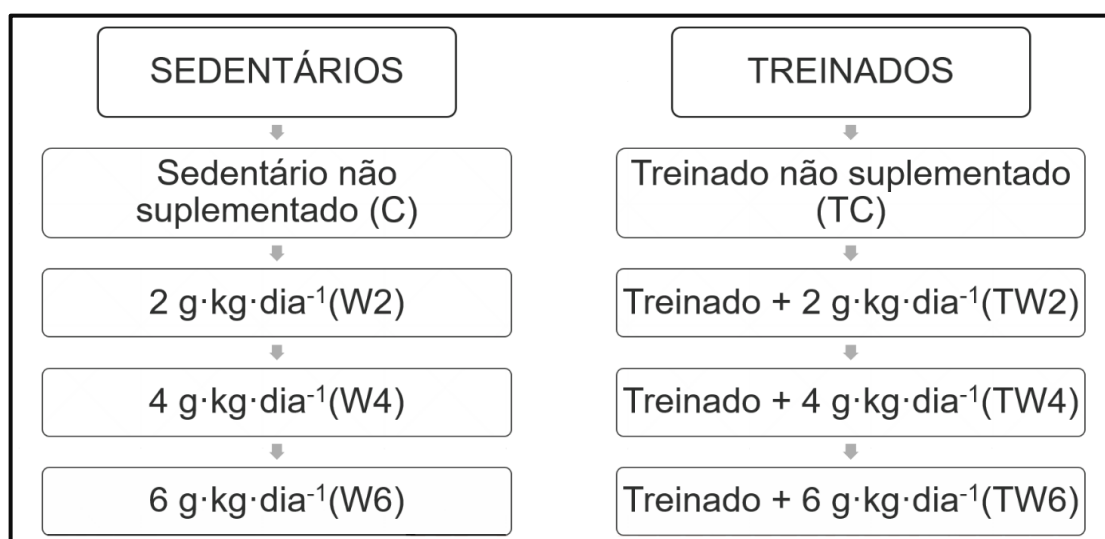


Figura 8 – Organização e divisão dos grupos.

5.7 Desenho do estudo

Todas as etapas da pesquisa seguem apresentadas na Figura 9.

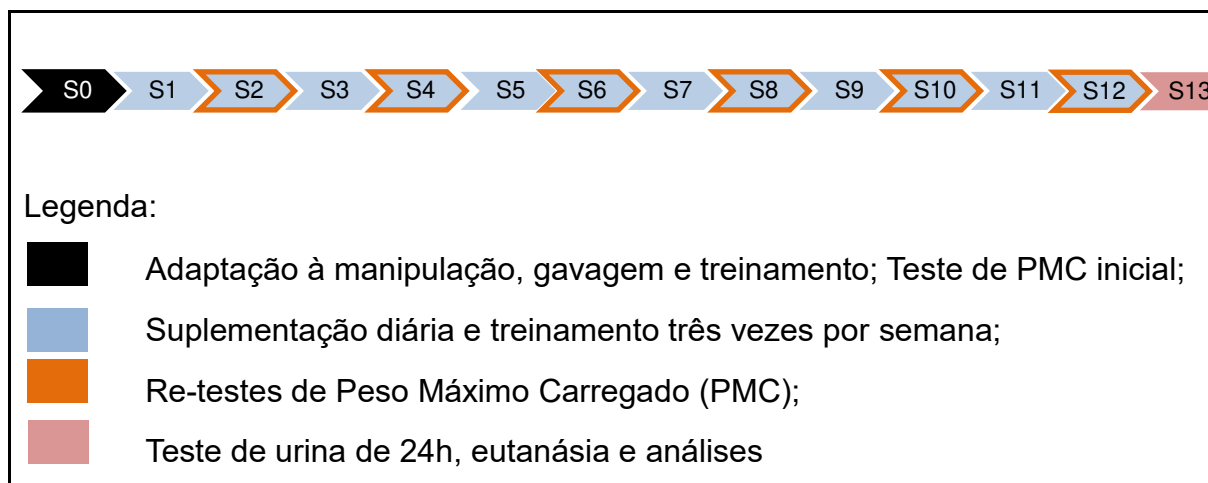


Figura 9 – Etapas do experimento durante 12 semanas.

5.8 Alojamento e controle de consumo de ração e água

Os ratos foram alojados sob condições higiênicas em gaiolas coletivas, com até 5 ratos por gaiola e mantidos em sala apropriada com controle de temperatura em $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, e sob ciclo alternado de claro/escuro de 12 horas.

Foram alimentados *ad libitum* com ração balanceada padrão para roedores (Nuvilab® CR-1) descrita no Quadro 1 (Pág. 67), sendo atribuído um valor médio de 300 g de ração para oferta diária em cada gaiola. Onde o consumo diário foi mensurado com base na diferença do peso da ração em relação ao dia anterior. Os pesos de ração foram mensurados em balança de precisão (Weblaborsp® 5200g).

A água filtrada foi fornecida *ad libitum*, onde diariamente foi reabastecida na quantidade total de 1000mL. O consumo diário foi mensurado com base na diferença do volume de água em relação ao dia anterior. Todos os volumes foram mensurados em proveta graduada (Uniglas® 500mL).

A água utilizada teve procedência do Biotério Setorial, sendo devidamente filtrada e tratada periodicamente, de acordo com as recomendações de manutenção.

Quadro 1 – Composição nutricional da ração para animais de laboratório (Nuvilab® CR-1)

Quantidade por porção (1 quilo)	
Nutriente	g/kg de ração
Umidade	120
Proteína Bruta	220
Extrato Etéreo	40
Material Mineral	90
Fibra Bruta	70
Cálcio	10 a 14
Fósforo	8

5.9 Procedimentos do treinamento resistido

A adaptação ao treinamento, foi realizada na semana 0, antes do início do treinamento e gavagem.

Os ratos foram gradualmente adaptados para o ato de escalar com equipamento de carga preso na cauda sem carga por 3 dias não consecutivos (intervalo de 48 horas entre sessões de adaptação). Cada sessão de adaptação consistiu em 4 escaladas, com intervalos de 120 segundos entre elas (Leite et. al., 2013).

A escada utilizada (Figura 10, pag. 68), foi adaptada com base em testes piloto, onde por meio de observações verificou-se alguns aspectos importantes para serem adaptados do modelo de escada tradicional. Porém, as medidas importantes para o treinamento (110 cm de altura, 18 cm de largura, grade com espaçamento de 2 cm entre os degraus e inclinação de 80°, com caixa de 20x20x20 cm no topo da escada) se mantiveram nos padrões do estudo original (Hornberger e Farrar, 2004).

48h após a última sessão de familiarização do treinamento, foi executado o Peso Máximo Carregado (PMC) para todos os animais dos grupos de treinamento.

O teste consistiu em até 9 escaladas com intervalo de 120 segundos entre as tentativas, adotando-se como carga inicial para a primeira escalada 75% da massa corporal total do rato. Nas escaladas seguintes, foi adotado incremento de 30g, sendo acrescido a cada tentativa.

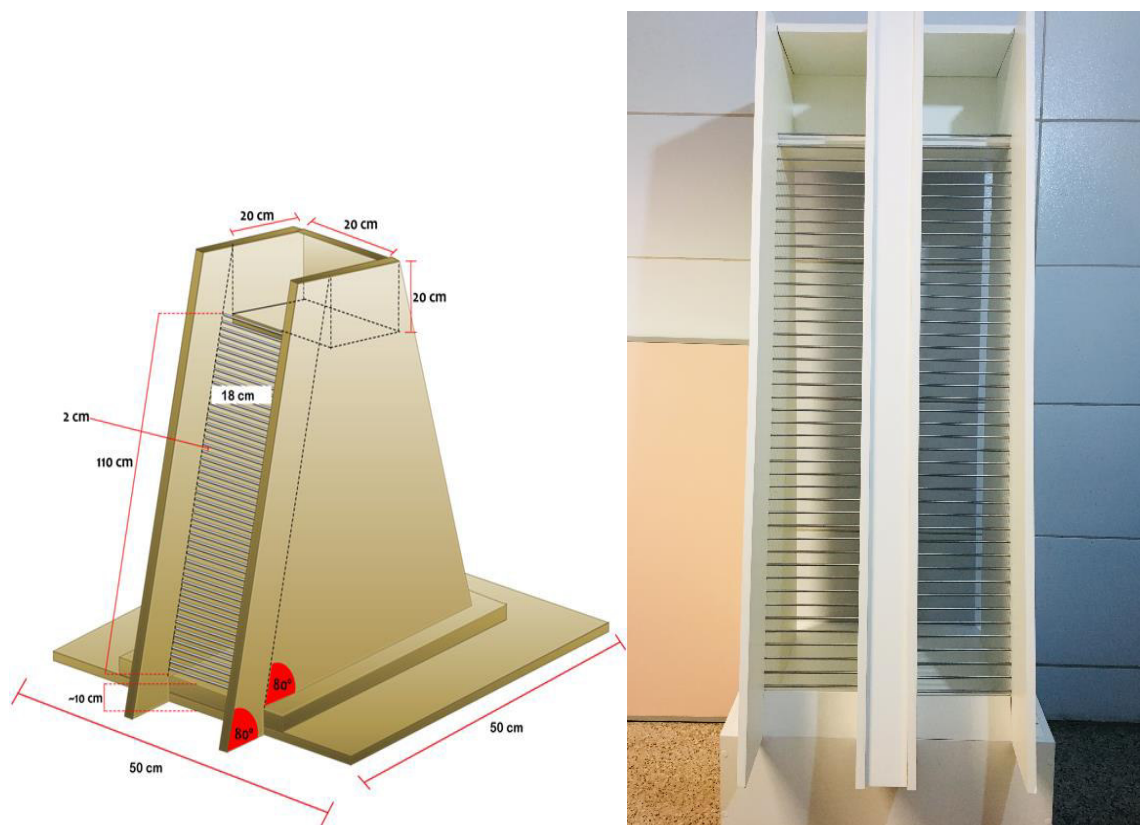


Figura 10 - Escada de Treinamento resistido para ratos, adaptada de Hornberger e Farrar (2004) (Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão - LAFIPEMA).

A carga máxima era estipulada quando havia falha em escalar toda a extensão da escada, então adotava-se a carga da escalada anterior completada. A falha era definida quando o rato não continuava a escalada após 3 estímulos consecutivos na cauda (com o uso de pinças).

O teste foi considerado válido apenas quando a carga máxima era indentificada entre 4 a 9 escaladas. Caso contrário, o teste refeito, após 48h (Leite et. al., 2013).

O teste de PMC foi aplicado a cada duas semanas durante as 12 semanas de treinamento nos grupos TC, TW2, TW4 e TW6, a fim de determinar as adaptações da força muscular ao longo do tempo e a prescrição da intensidade do treinamento ao longo das 12 semanas de experimento.

48h após o teste de PMC, iniciou-se o treinamento resistido, com frequência de 3 sessões semanais por 12 semanas, em dias não consecutivos. O protocolo utilizado

foi conforme a padronização de Hornberger e Farrar (2004), com consiste em 4 escaladas na escada (Figura 10, pág. 68) por sessão de treinamento com intensidade crescente de 50%, 75%, 90% e 100% do PMC determinado em teste (Leite et. al., 2013), caracterizando um treinamento resistido intenso.

5.10 Procedimentos de administração de *whey proteins*

5.10.1 Dose de *whey proteins* e preparo da solução padrão

As doses foram de 2, 4 e 6 g·kg·dia⁻¹ de *whey proteins*, distribuídas de acordo com o grupo correspondente. As doses foram administradas utilizando técnica de gavagem da solução padrão de *whey proteins*, tendo reajuste semanal com base na massa corporal total do rato.

A solução padrão foi calculada com base na quantidade proteínas (22g) por porção (25g) do suplemento H.I Whey (*Essential Nutrition*®) conforme descrição de composição (Quadro 2 e 3, pág. 70), utilizando de balança de precisão (*Marte*® AD 200) para mensuração do soluto (g).

Quadro 2 - Composição Nutricional do suplemento H.I Whey (*Essential Nutrition*®).

Quantidade por porção (25 gramas)		
Nutriente	g/porção	Valor diário (%)
Carboidratos	0	0%
Proteínas	22	29%
Gorduras totais	0	0%
Fibra alimentar	0	0%
Sódio	79	3%
Cálcio	118	12%
Fósforo	63	9%
Magnésio	22	8%

Quadro 3 - Aminograma do suplemento H.I Whey (*Essential Nutrition*®).

Quantidade por porção (25 gramas)	
Aminoácidos	g/porção
Ácido aspártico	2,6
Ácido glutâmico	3,7
Alanina	1,2
Arginina	0,5
Cistina	0,6
Fenilalanina	0,7
Glicina	0,4
Histidina	0,3
Isoleucina	1,5
Leucina	2,3
Lisina	2,2
Metionina	0,5
Prolina	1,4
Serina	1,1
Tirosina	0,6
Treonina	1,7
Triptofano	0,3
Valina	1,3

O soluto (suplemento comercial H.I. Whey - *Essential Nutrition*®) foi diluído em água, numa concentração comum de 0,323 g/mL que corresponde a 0,284 g/mL de *whey proteins*, com base na fórmula apresentada na Figura 11.

$$C = \frac{m_1}{V}$$

C: Concentração comum (g/mL)

m_1 : Massa do soluto (g)

V: Volume total da solução (mL)

Figura 11 – Fórmula para cálculo da Concentração Comum da solução.

5.10.2 Adaptação à gavagem

A adaptação à gavagem, foi realizada na semana 0, na mesma semana de adaptação ao treinamento resistido, e foi feita diariamente.

Gradualmente os ratos foram adaptados à técnica de manipulação. Assim, os ratos foram manualmente contidos de modo que a cabeça se mantivesse imóvel para o procedimento de adaptação.

Como material de gavagem, utilizou-se agulha específica com ponta-bola (*Bonther®*), ideal para evitar danos ao esôfago, sendo lentamente inserida na cavidade oral, através da boca e da faringe para o esôfago. A introdução da agulha era realizada conforme não fosse sentida nenhuma resistência e de modo que não penetrasse na traqueia, conforme ilustração da Figura 12 (Pág. 72) (Neves et. al., 2013).

5.10.3 Sessões de gavagem

As gavagens tiveram volume total determinado de acordo com a massa corporal total do rato, sendo: de 2mL para cada 100g de massa corporal do rato. Seguindo assim as recomendações para administrações de dietas líquidas (Andersen et. al., 2004), por isso padronizou-se um volume total de 5 mL por sessão de gavagem (Figura 13, pág. 72).

As gavagens foram realizadas diariamente, correspondendo à dosagem de *whey proteins* por grupo (2, 4 e 6g·kg·dia⁻¹) sendo dividida em três sessões de gavagem, com intervalos de 60 minutos entre elas. O intervalo entre as sessões de gavagem, corresponde ao tempo médio de esvaziamento gástrico do rato para dietas líquidas (Andersen et. al., 2004; Neves, Mancini Filho e De Menezes, 2013).

Nos grupos controle (C) e treinamento controle (TC) foi administrado o mesmo volume de gavagem (5mL), porém apenas com água.

Como material de gavagem, utilizou-se agulha específica (*Bonther®*), ideal para evitar danos ao esôfago, e seringa descartável graduada de 5mL (Figura 13, pág. 72), que para cada sessão de gavagem, foi aspirado da solução padrão o volume correspondente à 1/3 da dose diária de *whey proteins*, logo após aspirou-se água até o volume limite de 5 mL, caracterizando assim um mesmo volume total para todos os ratos a cada sessão, proporcionando mesmo *stress*.



Figura 12 – Gavagem.

(Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão - LAFIPEMA).



Figura 13 – Seringa e agulha de gavagem.

(Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão - LAFIPEMA).

A ração padrão era diariamente retirada das gaiolas 60 minutos antes do início da primeira gavagem, sendo devolvida apenas quando finalizadas as três sessões de gavagem. O tempo total de tratamento com suplementação foi de 12 semanas.

5.11 Coleta e análise da urina

- Teste de Urina de 24h

Ao final das 12 semanas de experimento, foi realizado o teste de urina de 24h que consiste na alocação dos ratos em gaiolas metabólicas individuais por 24 horas (Beira-mar® MA122) previamente higienizadas, com livre acesso à ração e água e em ambiente com ciclo claro/escuro e temperatura controlados (Figura 14) (Togashi e Miyamoto, 2013).

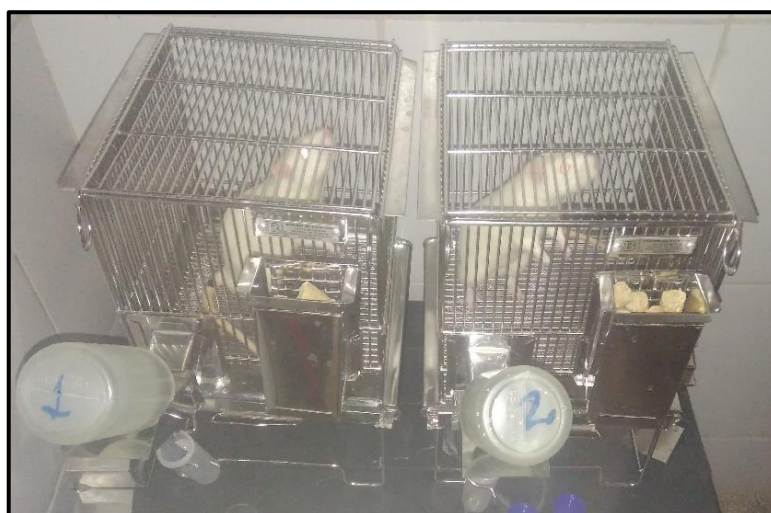


Figura 14 – Gaiolas metabólicas individuais (*Beira-mar*® MA122).

(Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão - LAFIPEMA).

Foram mensurados os seguintes parâmetros: ingestão alimentar de ração padrão (g) e ingestão hídrica (mL), e variação da massa corporal (g) (Lerco et. al., 2003; Dantas et. al., 2006).

- Urinálise

Após as 24h de coleta urina, foram realizados: exame físico que consistiu de mensuração do volume de urina (mL) (proveta graduada Uniglas®), exame químico semiquantitativo em tiras reagentes (*Sensitive® Sensi 10*) e exame químico com leitura automatizada (Leitora BioTek®) para quantificação.

No exame químico em tiras reagentes, avaliou-se os parâmetros pH, Densidade, proteína e glicose, conforme a tabela de classificação semiquantitativa apresentada na Figura 15.

Tiras de reagentes para análise urinária 10 Parâmetros				
TESTES	TEMPO DE LEITURA SEG.	RESULTADO DO TESTE		
Área de Compensação		NEG		
Leucócitos WB/ μ L	90 ~ 120		+	++
Urobilinogênio mg/dl	30 ~ 60	0.1 - Normal - 1	2	4
Bilirrubina mg/dl	30 ~ 60		+	++
Sangue/ Hemoglobina RBC/ μ L	30 ~ 60		+	++
Nitrito	30 ~ 60		Positivo	Qualquer intensidade de cor rosa é considerado positivo
pH	30 ~ 60	5	6	6.5
Densidade	30 ~ 60	1.000	1.005	1.010
Proteína mg/dl	30 ~ 60		+	++
Glicose mg/dl	30 ~ 60		+	++
Corpos Cetônicos mg/dl	30 ~ 60		+	++

Figura 15 – Escala de classificação do exame químico em tiras reagentes para urina (*Sensitive® Sensi 10*).

Em seguida a urina foi centrifugada a 3500 rpm por 10 minutos, sendo preparada para realização de exame químico com leitura automatizada para quantificação/concentração dos marcadores na leitora de microplaca (Leitora BioTek®) realizado no mesmo dia da coleta.

Todos os marcadores foram analisados em duplicata, conforme os seguintes procedimentos de quantificação:

- Quantificação do marcador proteína na urina

A determinação da concentração de proteína foi realizada com reação de ponto final, por meio de reação de cor entre o vermelho de pirogalol e molibdato de sódio, formando um cromóforo de cor azul quando em meio ácido.

Foi realizada uma leitura a 600nm, onde a absorbância obtida foi utilizada em equação específica para determinação da concentração da proteína na urina (*Labtest® - Sensiprot Ref. 36*).

- Quantificação do marcador Creatinina na urina

Inicialmente a urina foi diluída em água destilada com proporção de 1:25, em seguida realizou-se procedimento de desproteinização da amostra em ácido pícrico, sendo agitada e centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos. Logo após, utilizou-se para análise o sobrenadante para a determinação da concentração de Creatinina por cinética de dois pontos conforme a reação com o hidróxido de sódio.

Foram realizadas duas leituras em absorbância de 510nm nos tempos 30 e 90 segundos, que foram utilizadas em equação específica para determinação da concentração. O resultado obtido foi multiplicado por 25 (*Labtest® - Creatinina K Ref. 96*).

- Análise do marcador Ureia urinária

Para a determinação da concentração de Ureia utilizou-se sistema enzimático por cinética de dois pontos, tendo como princípio hidrolização da Ureia pela urease.

Inicialmente a urina foi diluída em água destilada com proporção de 1:50, sendo realizada duas leituras em absorbância de 340nm nos tempos 30 e 90 segundos, que foram utilizadas em equação específica para determinação da concentração. O resultado obtido foi multiplicado por 50 (*Labtest® - Creatinina K Ref. 96*).

5.12 Eutanásia

Vinte e quatro horas após os procedimentos experimentais finais e com doze horas de privação de alimentos, os ratos foram eunatasiados com injeção intraperitoneal de cetamina e xilazina a 70 mg/kg e 10 mg/kg respectivamente (Leary et. al., 2013; Neves et. al., 2013). Os critérios de eutanásia contemplaram a Resolução Normativa do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal nº25 de 29 de Novembro de 2015 (CONCEA, 2015a; 2015b).

5.13 Coleta e análise do sangue

Após a eutanásia, a coleta de sangue foi realizada por ensanguinação por decaptação em guilhotina (Beira-mar®), sendo o sangue colocado em tubo específico para separação do soro (Vacutainer®). As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos para separação do soro nas instalações do Laboratório de Bioanálises (APÊNDICE 2).

Em seguida o soro foi analisado bioquimicamente na leitora de microplaca automatizada (Leitora BioTek®) para quantificação/concentração dos marcadores séricos.

Todos os marcadores foram analisados no mesmo dia da coleta e em duplicata, conforme os seguintes procedimentos de quantificação:

- Quantificação da proteína total

A determinação da concentração de proteína no soro foi determinada por sistema colorimétrico por reação de ponto final, por meio de reação dos íons de cobre em meio alcalino (reagente de biureto) com as ligações peptídicas séricas formando um cromóforo de cor púrpura.

Foi realizada uma leitura a 545nm e a absorbância obtida foi utilizada em equação específica para determinação da concentração da proteína (*Labtest® - Proteínas totais Ref. 99*).

- Quantificação da Creatinina sérica

Inicialmente foi realizado procedimento de desproteinização da amostra de soro em ácido pícrico, sendo agitado e centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos. Logo após, utilizou-se para análise o sobrenadante límpido para a determinação da concentração de Creatinina por cinética de dois pontos conforme a reação com o hidróxido de sódio.

Foram realizadas duas leituras em absorvância de 510nm nos tempos 30 e 90 segundos, que foram utilizadas em equação específica para determinação da concentração (*Labtest® - Creatinina K Ref. 96*).

- Quantificação da Ureia sérica

Para a determinação da concentração de Ureia no soro utilizou-se sistema enzimático por cinética de dois pontos, tendo como princípio hidrolização da Ureia pela urease, sendo realizada duas leituras em absorvância de 340nm nos tempos 30 e 90 segundos, que foram utilizadas em equação específica para determinação da concentração (*Labtest® - Creatinina K Ref. 96*).

- Quantificação do Ácido Úrico Sérico

Para a determinação da concentração de Ácido Úrico utilizou-se sistema enzimático reação de ponto final, tendo como princípio a oxidação pela Uricase, Alantonina e Peróxido de hidrogênio. Foi realizada uma leitura em absorvância de 505nm a reação teve coloração vermelha em intensidade proporcional ao conteúdo de ácido úrico na amostra. O valor obtido foi utilizado em equação específica para determinação da concentração (*Labtest® - Ácido Úrico Liquiform Ref. 140*).

- Quantificação da Albumina Sérica

Para a determinação da concentração de Albumina Sérica utilizou-se de método de ligação com corantes em sistema de determinação de ponto final. A reação foi a partir da propriedade da Albumina de ligar-se a corantes, a cor formada foi medida

colorimetricamente em 630nm. O valor de absorbância obtido foi utilizado em equação específica para determinação da concentração (*Labtest® - Albumina Ref. 19*).

5.14 Morfometria

Após a eutanásia e coleta do sangue, foi extraído cirurgicamente o rim direito dos 27 ratos. Imediatamente após a dissecação, os rins foram pesados em balança de precisão (*Marte® AD 200*) e em seguida colocados em recipientes individuais sendo embebidos em formalina 10% por 48 horas e prontamente em álcool 70% até o momento do processamento histológico.

Para os procedimentos de análise histológica foram realizados cortes longitudinais, com único movimento de clivagem, tendo como base para o ponto médio a região da pélvis renal (Figura 16) (Caputo, Gitirana e Manso, 2010).



Figura 16 – Corte longitudinal dos rins.

Após realizados os procedimentos de corte, os rins foram armazenados em cassetes histológicos identificados e encaminhados para o processamento histológico, iniciando com a desidratação com álcool 70%, seguido da etapa de clarificação com xilol e posterior infiltração de parafina, para preparo dos blocos de parafina. Ao final desse processo, os blocos de parafina foram alocados em estufa a

60°C por 1 hora.

Em seguida foram realizados cortes em micrótomo manual, com 5 µm de espessura, os cortes em parafina foram dispostos em banho maria a 40°C para a montagem da lâmina histológica, posteriormente foram corados com hematoxilina e eosina.

Em finalização realizou-se a colagem da lamínula, sendo fixada com Entellan (Merck®) sob a lâmina. As lâminas foram confeccionadas em duplicata, com duas bordas renais em cada.

5.14.1 Análise histológica

A gravidade do dano renal foi avaliada por mensuração da hipertrofia glomerular comparada entre os grupos tratados com seus controles, indicados em medidas quantitativas. Foram mensurados 100 glomérulos de cada rato, em 20 campos aleatórios na zona cortical renal em objetiva de 10 × em um microscópio óptico (*Olympus® CX31*).

Em *software* específico (Figura 17) para análise de imagem (*Carl Zeiss®*) foram determinados os diâmetros (µm) dos glomérulos a partir da maior distância aparente. Em seguida o raio foi determinado pela fórmula: $\text{raio} = \text{diâmetro} / 2$, conforme método adotado por Alfaro-Lira, Pizarro-Ortiz e Calaf (2012).

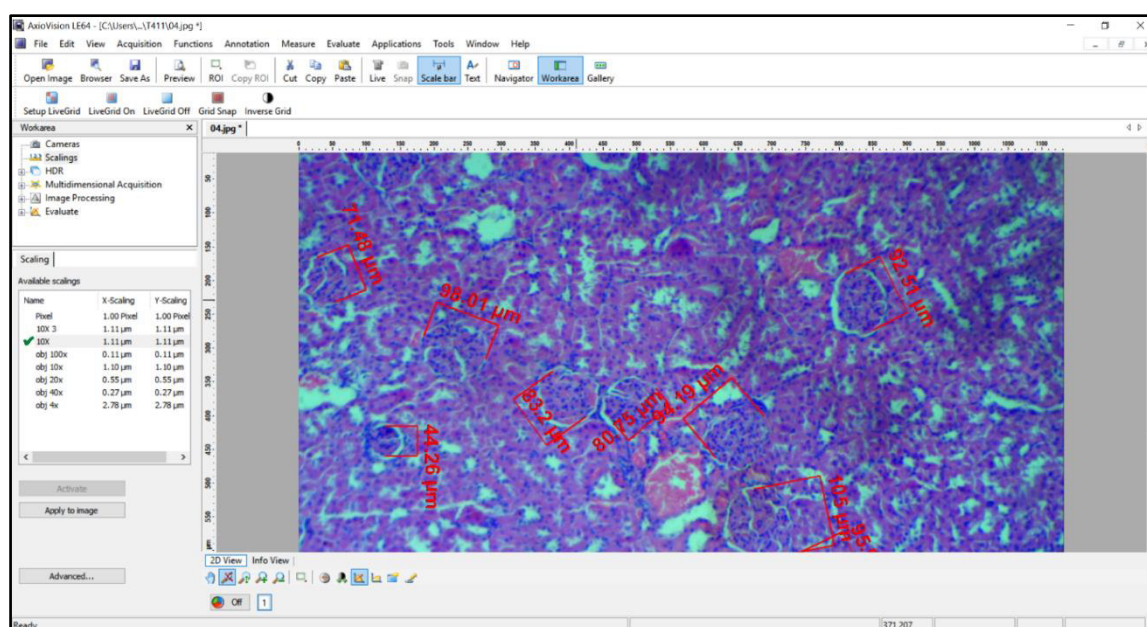


Figura 17 - Software de Análise de Imagem (*Carl Zeiss®*).

5.15 Processamento e tratamento estatístico

Todas as variáveis foram testadas quanto à distribuição da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$). Para a devida comparação entre medidas repetidas entre as semanas em cada grupo separadamente, foi aplicado o teste de ANOVA One-way com post-hoc de Tukey adotando para valores significativos $p < 0,05$. Para a comparação de uma variável intergrupos ao longo do tempo, foi utilizado ANOVA two-way com post-hoc de Tukey adotando valores significativos de $p < 0,05$.

Adotou-se intervalo de confiança de 95% nos testes estatísticos aplicados. O software utilizado para a aplicação dos testes estatísticos foi o GraphPad Prism® versão 7.

6 RESULTADOS

As variáveis apresentadas são referentes à massa corporal total e variação da massa corporal total, consumo de *whey proteins*, consumo total de proteína, alterações do peso máximo carregado, resultados do teste de urina de 24h (ingesta de ração, ingesta hídrica, variação da massa corporal, e volume da urina de 24h), marcadores urinários, marcadores séricos, peso absoluto e relativo dos rins, e análise histológica da hipertrofia glomerular.

6.1 Massa corporal total e relativa

Tabela 1 - Massa Corporal Total (MCT) e Relativa em Média, Erro Padrão e Percentual

	S0 (g)	S12 (g)	Δ Massa Corporal (g)	Δ Massa Corporal (%)
C (n=10)	302,61 $\pm 9,27$	434,13* $\pm 13,48$	131,52 $\pm 6,07$	43,54 $\pm 1,70$
W2 (n=10)	311,04 $\pm 4,04$	479,47* ^c $\pm 12,45$	168,43 $\pm 11,12$	54,17 $\pm 3,54$
W4 (n= 7)	302,11 $\pm 3,25$	504,96* ^{bdefg} $\pm 10,29$	202,84 ^{$\alpha\gamma$} $\pm 8,09$	67,09 $\pm 2,35$
W6 (n=5)	258,88 $\pm 6,74$	420,52 [#] $\pm 17,37$	161,64 $\pm 11,02$	62,21 $\pm 2,85$
TC (n=10)	320,37 ^a $\pm 13,79$	477,74* ^h $\pm 13,82$	157,37 $\pm 22,59$	52,60 $\pm 9,94$
TW2 (n=9)	302,54 $\pm 9,55$	441,23* $\pm 17,11$	138,69 $\pm 10,28$	45,79 $\pm 2,77$
TW4 (n=6)	280,37 $\pm 9,57$	442,75 ^{ϕ} $\pm 18,02$	129,05 $\pm 18,44$	46,64 $\pm 7,40$
TW6 (n=7)	297,57 $\pm 6,15$	430,94* $\pm 14,01$	133,37 $\pm 10,93$	44,81 $\pm 3,40$

Δ = S12-S0; S0 = Inicial; S12 = Final; C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹;
Teste T (S0 vs. S12): * p<0,0001; # p=0,0001; ϕ p=0,0009. **Letras na vertical (Intergrupos: ANOVA Two-Way post hoc Tukey):** S0 = a TC vs. W6 (p=0,0418); S12 = b W4 vs. C (p=0,0024); c TW4 vs. W2 (p=0,0054); d W6 vs. W4 (p= 0,0023); e TW2 vs. W4 (p=0,0126); f TW4 vs. W4 (p=0,001); g TW6 vs. W4 (p=0,0041); h TW4 vs. TC (p=0,0074). **Símbolos na vertical (Intergrupos: ANOVA One-Way post hoc Tukey):** α C vs. W4 (p=0,0157); $\S$ TW2 vs. W4 (p=0,0482); γ TW4 vs. W4 (p=0,0346).

Conforme apresentado na Tabela 1 (Pág. 82), as médias de MCT foram encontradas médias significativamente maiores em S12 em todos grupos indicando progresso dessa variável ao final das 12 semanas de experimento em comparação a S0.

Nas comparações intergrupos da S0 houve diferença significativa entre TC e W6, demonstrando média maior na MCT de TC. Já em S12 o grupo W4 teve ganho de MCT significativamente maior do que os grupos C, W6, TW2, TW4 e TW6. Destaca-se que o grupo W4 em S0 não apresentou diferença quando comparado aos outros grupos, demonstrando tal diferença apenas em S12.

As variações (Δ) da MCT o grupo W4 apresentou o maior ganho de MCT no intervalo entre S0 à S12 em relação aos grupos C, TW2 e TW4 (Figura 18).

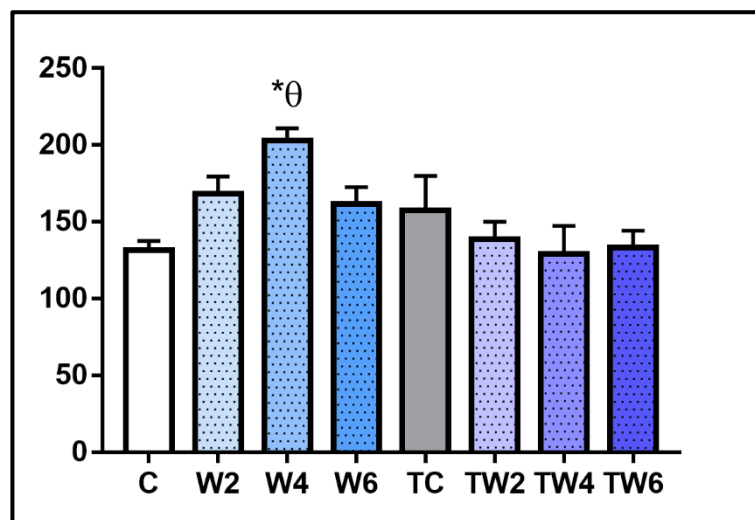


Figura 18 – Representação gráfica de Δ MCT (g) intergrupos

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos indicam maior média ($p < 0,05$) = * vs. C; θ vs. TW4.

6.2 Consumo de *whey proteins*

Tabela 2 – Consumo absoluto de *whey proteins* (g·semana⁻¹) em média e erro padrão da média por grupo.

	S0	S12
C (n=10)	Não suplementado	Não suplementado
W2 (n=10)	4,35 ±0,06	6,75* ±0,16
W4 (n= 7)	8,46 ^{af} ±0,09	13,75 ^{*nst} ±0,28
W6 (n=5)	10,87 ^{behi} ±0,28	17,21 ^{#orvw} ±0,73
TC (n=10)	Não suplementado	Não suplementado
TW2 (n=9)	4,24 ±0,15	6,08* ±0,25
TW4 (n=6)	7,85 ^{ck} ±0,27	11,66 ^{*px} ±0,25
TW6 (n=7)	12,50 ^{dgjlm} ±0,26	18,06 ^{*quyz} ±0,57

Momentos: S0 = Inicial; S12 = Final; **Grupos:** C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **Teste T (S0 vs. S12):** * p<0,0001; # p=0,0002. **Letras na vertical (Intergrupos: ANOVA Two-Way post hoc Tukey):** S0 = a W4 vs. W2 (p<0,0001); b W6 vs. W2 (p<0,0001); c TW4 vs. W2 (p<0,0001); d TW6 vs. W2 (p<0,0001); e W6 vs. W4 (p<0,0001); f TW2 vs. W4 (p<0,0001); g TW6 vs. W4 (p<0,0001); h TW2 vs. W6 (p<0,0001); i TW4 vs. W6 (p=0,0075); j TW6 vs. W6 (p=0,0075); k TW4 vs. TW2 (p<0,0001); l TW6 vs. TW2 (p<0,0001); m TW6 vs. TW4 (p<0,0001). S12 = n W4 vs. W2 (p<0,0001); o W6 vs. W2 (p<0,0001); p TW4 vs. W2 (p<0,0001); q TW6 vs. W2 (p<0,0001); r W6 vs. W4 (p<0,0001); s TW2 vs. W4 (p<0,0001); t TW4 vs. W4 (p<0,0001); u TW6 vs. W4 (p<0,0001); v TW2 vs. W6 (p<0,0001); w TW4 vs. W6 (p<0,0001); x TW4 vs. TW2 (p<0,0001); y TW6 vs. TW2 (p<0,0001); z TW6 vs. TW4 (p<0,0001).

Diante do apresentado na Tabela 2, o consumo de *whey proteins* se mostrou aumentado na semana final (S12) com médias significativamente maiores em todos grupos suplementados em comparação a S0.

Em S0 as comparações intergrupos em maioria todos foram significativamente diferentes entre si, exceto W2 e TW2, W4 e TW4. Enquanto que em S12 o grupo W2 teve menor valor de consumo de *whey proteins* em comparação a todos os grupos, exceto o grupo treinado que consumiu a mesma dose (TW2). O grupo W6 e TW6 também não apresentaram diferenças entre si, enquanto os grupos suplementados com 4g embora no momento inicial (S0) não apresentem diferença, no momento S12 o grupo W4 apresentou maior consumo de *whey proteins* em comparação ao grupo TW4.

6.3 Testes de peso máximo carregado (PMC)

Tabela 3 – Variação do Peso Máximo Carregado (g) em média e desvio padrão conforme reajuste a cada duas semanas de treinamento resistido.

	TC (n=10)	TW2 (n=9)	TW4 (n=6)	TW6 (n=7)
$\Delta S2$	55,86 $\pm 11,35$	86,28 $\pm 11,28$	153,09* [#] $\pm 19,07$	71,14 $\pm 22,08$
$\Delta S4$	150,91 ^a $\pm 16,64$	171,36 ^a $\pm 14,25$	200,02 $\pm 18,00$	136,94 $\pm 17,90$
$\Delta S6$	154,36 ^b $\pm 21,45$	190,78 ^b $\pm 10,21$	238,28 ^{§α} $\pm 16,80$	159,53 $\pm 18,98$
$\Delta S8$	176,14 ^c $\pm 19,93$	226,57 ^{cf} $\pm 17,22$	268,55 ^{ϕ^a} $\pm 24,90$	195,06 ^a $\pm 15,11$
$\Delta S10$	209,19 ^{dfg} $\pm 14,31$	257,79 ^{dgi} $\pm 6,62$	259,85 ^b $\pm 23,20$	240,80 ^b $\pm 18,08$
$\Delta S12$	218,15 ^e $\pm 26,87$	262,02 ^{ehj} $\pm 11,06$	317,82 ^{γ^{cdefg}} $\pm 19,56$	263,14 ^{cdefg} $\pm 25,45$

$\Delta S2 = S2-S0$; $\Delta S4 = S4-S0$; $\Delta S6 = S6-S0$; $\Delta S8 = S8-S0$; $\Delta S10 = S10-S0$; $\Delta S12 = S12-S0$. TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **Letras na vertical (intragrupos: ANOVA One-Way post hoc Tukey):** TC = a $\Delta S2$ vs. $\Delta S4$ (p<0,0001); b $\Delta S2$ vs. $\Delta S6$ (p<0,0001); c $\Delta S2$ vs. $\Delta S8$ (p<0,0001); d $\Delta S2$ vs. $\Delta S10$ (p<0,0001); e $\Delta S2$ vs. $\Delta S12$ (p<0,0001); f $\Delta S4$ vs. $\Delta S10$ (p=0,0008); g $\Delta S4$ vs. $\Delta S10$ (p=0,0001). TW2 = a $\Delta S2$ vs. $\Delta S4$ (p=0,0300); b $\Delta S2$ vs. $\Delta S6$ (p=0,0003); c $\Delta S2$ vs. $\Delta S8$ (p=0,0026); d $\Delta S2$ vs. $\Delta S10$ (p<0,0001); e $\Delta S2$ vs. $\Delta S12$ (p<0,0001); f $\Delta S4$ vs. $\Delta S8$ (p=0,0475); g $\Delta S4$ vs. $\Delta S10$ (p=0,0010); h $\Delta S4$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0010); i $\Delta S6$ vs. $\Delta S10$ (p=0,0080); j $\Delta S6$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0073). TW4 = a $\Delta S2$ vs. $\Delta S8$ (p=0,0393); b $\Delta S2$ vs. $\Delta S10$ (p=0,0217); c $\Delta S2$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0027); d $\Delta S4$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0432); e $\Delta S6$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0052); f $\Delta S8$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0391); g $\Delta S10$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0363). TW6 = a $\Delta S2$ vs. $\Delta S8$ (p=0,0354); b $\Delta S2$ vs. $\Delta S10$ (p=0,0003); c $\Delta S2$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0006); d $\Delta S4$ vs. $\Delta S10$ (p=0,0035); e $\Delta S4$ vs. $\Delta S12$ (p=0,0066); f $\Delta S6$ vs. $\Delta S10$ (p=0,0465). **Símbolos na horizontal (intergrupos: ANOVA Two-Way post hoc Tukey):** $\Delta S2 = *$ TW4 vs. TC (p=0,0017); $\#$ TW6 vs. TW4 (p=0,0225). $\Delta S6 = §$ TW4 vs. TC (p=0,0092); α TW6 vs. TW4 (p=0,0308). $\Delta S8 = \phi$ TW4 vs. TC (p<0,0032). $\Delta S12 = \gamma$ TW4 vs. TC (p=0,0012).

Sobre a variação do Peso Máximo Carregado (ΔPMC) a partir do apresentado na Tabela 3 e ilustrado na Figura 19 (Pág. 87), nas comparações intragrupos TC teve aumento de força ao longo do experimento, apresentando diferença significativa do aumento do PMC em $\Delta S4$, $\Delta S6$, $\Delta S8$, $\Delta S10$ e $\Delta S12$ em comparação a $\Delta S2$, também havendo aumento significativo do PMC em $\Delta S10$ quando comparado com $\Delta S4$ e $\Delta S6$, demonstrando-se estável entre as demais semanas não apresentando diferença.

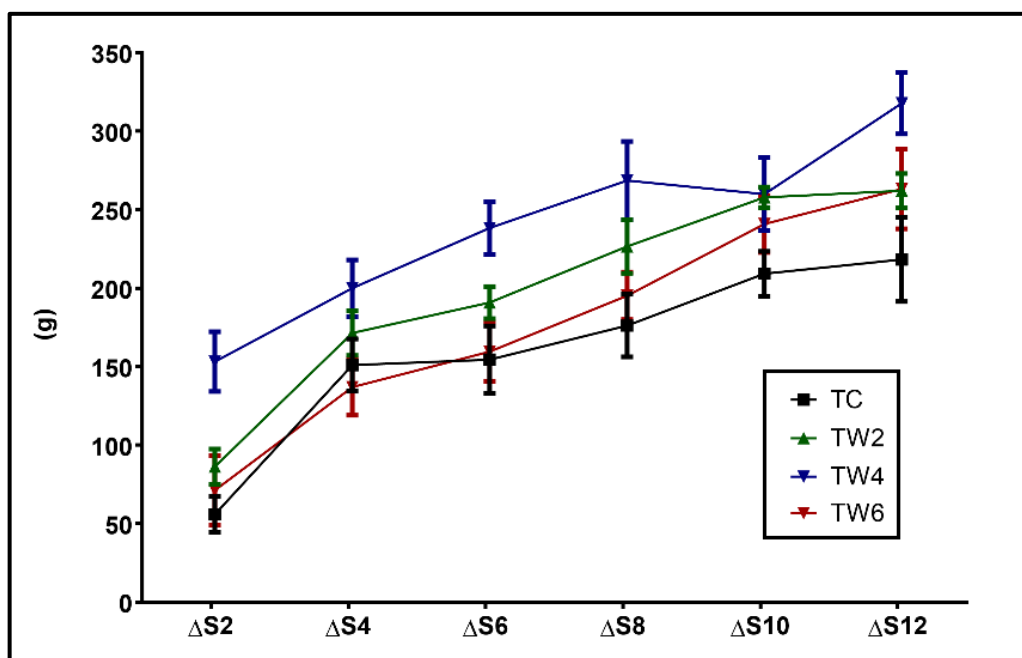


Figura 19 – Variação do Peso Máximo Carregado.

$\Delta S2 = S2-S0$; $\Delta S4 = S4-S0$; $\Delta S6 = S6-S0$; $\Delta S8 = S8-S0$; $\Delta S10 = S10-S0$; $\Delta S12 = S12-S0$. TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹.

Semelhantemente o grupo TW2 apresentou aumento do PMC em $\Delta S4$, $\Delta S6$, $\Delta S8$, $\Delta S10$ e $\Delta S12$ em comparação a $\Delta S2$. Houve estabilização entre $\Delta S4$ e $\Delta S6$ retomando a aumento significativo do PMC entre $\Delta S4$ e $\Delta S8$, $\Delta S4$ e $\Delta S10$, $\Delta S4$ e $\Delta S12$. Entre $\Delta S6$ e $\Delta S8$ houve novamente estabilização seguindo para aumento significativo entre $\Delta S6$ e $\Delta S10$, $\Delta S6$ e $\Delta S12$. De $\Delta S8$ a $\Delta S12$ houve estabilização total não demonstrando mais aumentos significativos da força no teste de PMC.

Já no grupo TW4 os resultados apresentaram comportamento diferente, demonstrando aumento de força a partir de $\Delta S8$ quando comparado a $\Delta S2$, seguindo para uma estabilização de $\Delta S4$ a $\Delta S10$, seguindo para um novo pico de aumento do PMC entre $\Delta S4$ e $\Delta S12$, apresentando novamente estabilização de $\Delta S6$ a $\Delta S10$ havendo novamente pico de aumento significativo em $\Delta S6$ e $\Delta S12$, $\Delta S8$ e $\Delta S12$, $\Delta S10$ e $\Delta S12$. O grupo TW4 tem comportamento ondulatório de aumento de força, seguindo de forma ascendente entre picos de aumento e estabilizações ao longo das semanas.

No grupo TW6 houve aumento significativo do PMC a partir de $\Delta S8$, demonstrando estabilização no aumento de força de $\Delta S4$ a $\Delta S8$, seguindo de aumento significativo entre $\Delta S4$ e $\Delta S10$, $\Delta S4$ e $\Delta S12$, estabilizando novamente a força em $\Delta S6$ e $\Delta S8$, seguindo para o ultimo pico de aumento de força do grupo entre $\Delta S6$ e $\Delta S10$, seguindo para estabilização do PMC até o final do experimento.

Quando realizadas as comparações intergrupos, observou-se que em $\Delta S2$ e $\Delta S6$ o grupo TW4 apresentou maior ganho de força em relação a TC e TW6. Em $\Delta S8$ e $\Delta S12$ o grupo TW4 houve maior ganho somente em comparação a TC. Nos demais momentos não houve diferença significativa no aumento de força no teste de PMC.

Em suma, o grupo TC demonstrou menor aumento no ganho de força em comparação aos grupos treinados e suplementados, enquanto que o grupo TW4 demonstrou maior ganho de força no teste de PMC obtendo maior aumento de carga em diferença ao teste inicial e em comparação aos demais grupos.

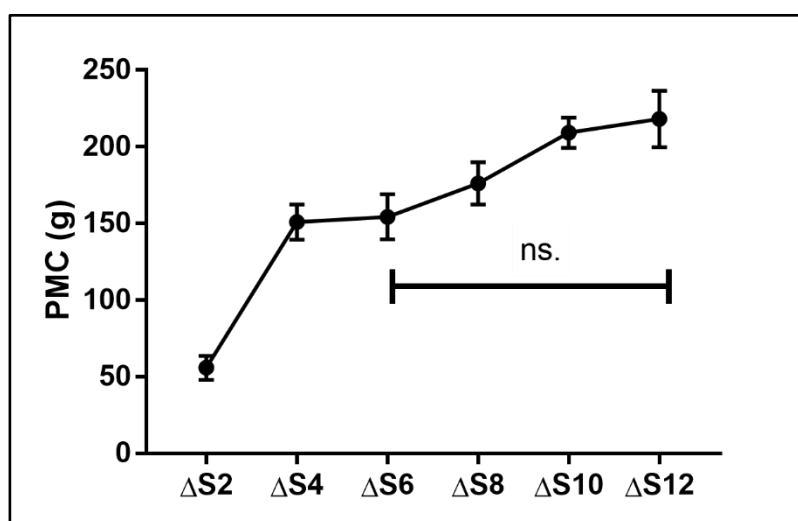


Figura 20 – Representação gráfica do Peso Máximo Carregado do grupo TC.

Sobre os resultados de comportamento da força, o grupo TC (Figura 20) apresentou estabilização da a partir de $\Delta S6$. O grupo TW2 apresentou estabilização a partir de $\Delta S8$ (Figura 21, pág. 89). Porém TW4 apresentou estabilização entre $\Delta S4$ e $\Delta S10$, tornando a aumentar a força de $\Delta S10$ a $\Delta S12$ (Figura 22, pág. 89). O grupo TW6 também estabilizou a partir de $\Delta S6$ (Figura 23, pág. 89).

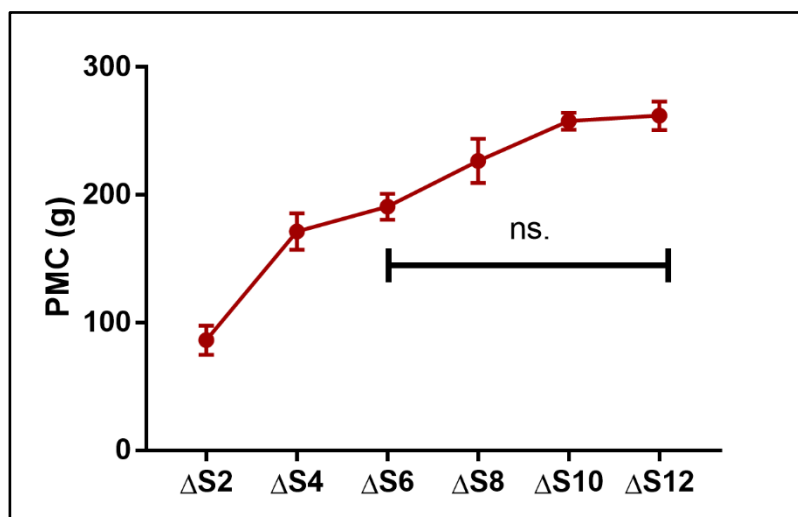


Figura 21 – Representação gráfica do Peso Máximo Carregado do grupo TW2.

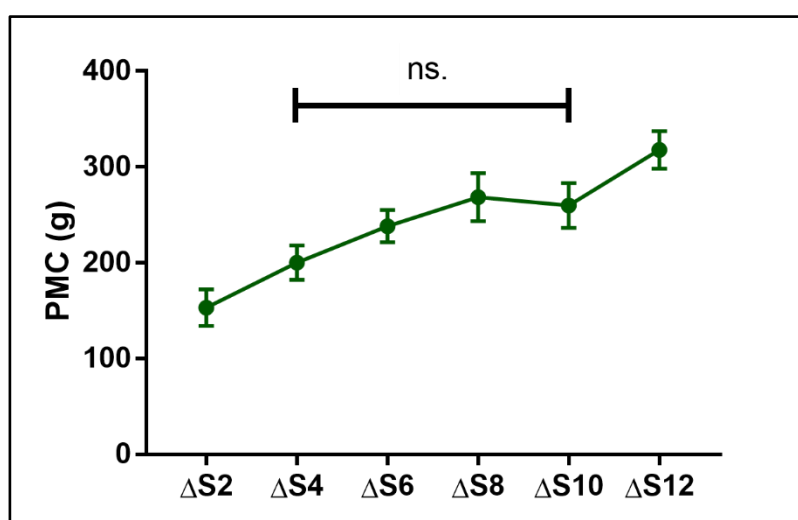


Figura 22– Representação gráfica do Peso Máximo Carregado do grupo TW4.

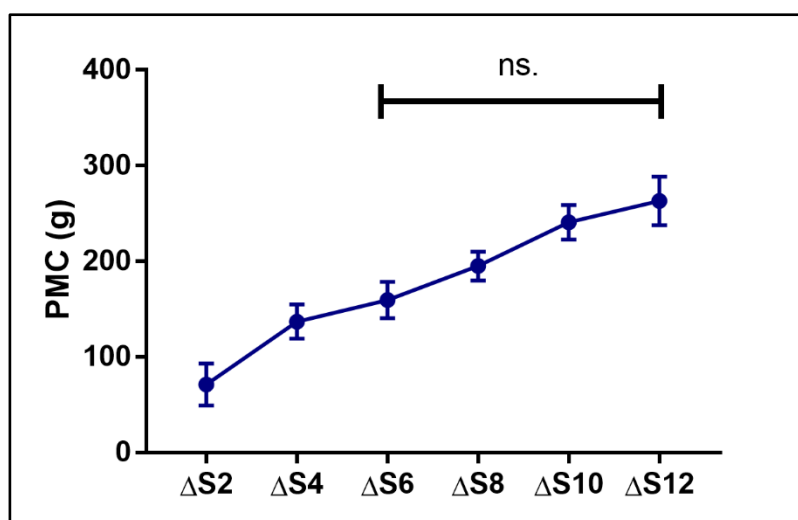


Figura 23 – Representação gráfica do Peso Máximo Carregado do grupo TW6.

6.4 Avaliação dos parâmetros renais

Tabela 4 – Parâmetros físicos do teste de urina de 24h apresentados em média e erro padrão.

	C (n=10)	W2 (n=10)	W4 (n=7)	W6 (n=5)	TC (n=10)	TW2 (n=9)	TW4 (n=6)	TW6 (n=7)
Δ MCT (g)	-12,32	-19,38	-7,34	-20,46	-19,66	-6,53	-11,3	-9,20
	$\pm 4,32$	$\pm 3,81$	$\pm 2,11$	$\pm 5,79$	$\pm 4,70$	$\pm 3,78$	$\pm 3,56$	$\pm 3,14$
Ingestão de	18,82	14,77	22,41	13,74	16,41	20,34	21,3	20,8
ração padrão (g)	$\pm 1,92$	$\pm 2,63$	$\pm 1,80$	$\pm 3,02$	$\pm 1,55$	$\pm 2,20$	$\pm 2,79$	$\pm 2,35$
Ingestão de	21,4	20,2	27,71	7,60	13,44	23,67	20,0	25,14
água (g)	$\pm 4,40$	$\pm 4,85$	$\pm 3,34$	$\pm 6,14$	$\pm 4,79$	$\pm 6,18$	$\pm 4,26$	$\pm 3,46$
Volume de urina	12,46	11,24	12,06	9,76	11,16	7,87	7,67	8,57
de 24h (mL)	$\pm 1,74$	$\pm 1,37$	$\pm 1,73$	$\pm 1,40$	$\pm 1,71$	$\pm 1,15$	$\pm 0,67$	$\pm 0,79$

Δ = MCT pós teste – MCT pré teste; C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Sem diferenças significativas.

Conforme apresentado na Tabela 4, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos nas variáveis de: variação da MCT, ingestão de ração padrão, ingestão de água, e no volume de urina de 24h entre os grupos, durante o teste de urina de 24h. Demonstrando comportamento semelhante em todos os grupos.

Tabela 5 – Análise química em tiras reagentes apresentada em percentual por grupo conforme a classificação por analito.

Classificação por analito		C		W2		W4		W6		TC		TW2		TW4		TW6	
		(n=10)		(n=10)		(n=7)		(n=5)		(n=10)		(n=9)		(n=6)		(n=7)	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
pH	8	8	80	7	70	-	-	2	40	10	100	-	-	1	16,66	1	14,28
	9	2	20	3	30	7	100	3	60	-	-	9	100	5	83,33	6	85,71
Densidade	1.000	7	70	9	90	2	28,57	3	60	3	30	7	77,77	3	50	5	71,42
	1.005	2	20	1	10	4	57,14	1	20	7	70	2	22,22	3	50	1	14,28
	1.010	1	10	-	-	1	14,28	-	-	-	-	-	-	-	-	1	14,28
	1.015	-	-	-	-	-	-	1	20	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteinúria (mg/dL)	+30	1	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	++100	8	80	4	40	-	-	1	20	5	50	-	-	-	-	1	14,28
	+++300	1	10	4	40	-	-	2	40	5	50	7	77,77	5	83,33	6	85,71
	++++1000	-	-	2	20	7	100	2	40	-	-	2	22,22	1	16,66	-	-
Glicosúria (mg/dL)	Negativo (<50mg/dL)	10	100	10	100	7	100	5	100	10	100	9	100	6	100	7	100

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹.

Na tabela 5 (Pág. 91) são apresentados valores descritivos dos parâmetros urinários analisados quimicamente em tira reagente, onde todos os grupos apresentaram pH alcalino (8 e 9), Densidade da urina diluída entre 1.000 a 1.010, exceto 20% do grupo W6 que teve Densidade 1.015.

Na classificação dos leucócitos observou-se que os grupos C, W2, W4 e TC tiveram sua maioria classificados em $\pm$. 80% do grupo W6 foi classificado em negativo. Porém os grupos treinados e suplementados foram em sua maioria classificados em $\pm$ e +.

Apenas os grupos W6 e TC apresentaram a maioria do grupo classificada com nitrito negativo na urina. Os demais grupos do estudo foram todos em sua maioria classificados com nitrito positivo na urina.

A proteína teve classificações de +30 (30mg/dL), ++100 (40-100 mg/dL), +++300 (150-350 mg/dL) e ++++1000 (>500 mg/dL). O grupo controle sedentário, que não recebeu suplementação, não teve nenhum rato do grupo classificado no nível ++++1000, ficando cerca de 80% do grupo C classificado em ++100. No grupo W2, observou-se uma tendência ao aumento, ficando classificados entre ++100 e ++++1000, tendo a maioria do grupo em ++100 e +++300. No mesmo sentido, o grupo W4 teve 100% dos ratos classificados no nível mais alto ++++1000. Já para o grupo sedentário W6 a maioria do grupo ficou entre +++300 e ++++1000, não apresentando nenhum rato classificado em +30. A proteína nos grupos treinados, também teve comportamento semelhante aos grupos sedentários. Tendo a mesma tendência de aumento da classificação conforme aumento da dose.

A glicose foi classificada como negativa para todos os grupos, sendo inferior a 50mg/dL e, portanto, indetectável na análise química.

Tabela 6 – Concentração dos marcadores urinários proteína, Creatinina e Ureia (absolutos e por 24h), apresentados em média e erro padrão da média.

	C	W2	W4	W6	TC	TW2	TW4	TW6
	(n=10)	(n=10)	(n=7)	(n=5)	(n=10)	(n=9)	(n=6)	(n=7)
Proteinúria	98,07	108,98	98,62	97,08	103,91	109,51	105,58	78,70
(mg/dL)	±6,27	±8,43	±5,61	±6,57	±3,68	±4,71	±6,42	±11,38
Proteinúria de 24h ^a	12,02	11,90	11,39	9,65	11,29	8,53	8,23	6,72
(mg/24h)	±1,76	±1,35	±1,06	±1,29	±1,45	±1,32	±0,98	±1,10
Creatinina	102,02	132,81	105,25	106,78	83,12	187,08 ^{*#}	206,98 ^{*#φ}	232,23 ^{*#α}
(mg/dL)	±22,29	±141,84	±6,41	±5,01	±6,35	±30,33	±14,11	±7,97
Creatinina de 24h ^b	14,18	13,75	12,23	10,22	8,70	12,67	15,48	19,74 [#]
(mg/24h)	±3,69	±1,32	±1,30	±1,02	±0,89	±1,29	±0,87	±1,60
Ureia	2704,96	5768,06	3774,79	5316,53	4524,81	8809,41 ^{*#}	8620,60 [*]	7136,59
(mg/dL)	±842,42	±1078,52	±322,31	±122,06	±334,54	±1744,99	±1171,09	±932,48
Ureia de 24h ^c	343,44	583,15	376,28	396,84	480,34	608,56	723,90	640,86
(mg/24h)	±122,42	±66,73	±25,14	±49,0	±60,58	±122,04	±130,57	±80,98

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos na horizontal indicam maior média (p<0,05) = * vs. C; # vs. TC; φ vs. W4; α vs. W6. **Equações:** a= [Proteinúria (mg/dL) × Volume (mL/24h)] / 100; b= [Creatinina (mg/dL) / 100] × Volume (mL/24h); c= [Ureia (mg/dL) × Volume (mL/24h)] / 100.

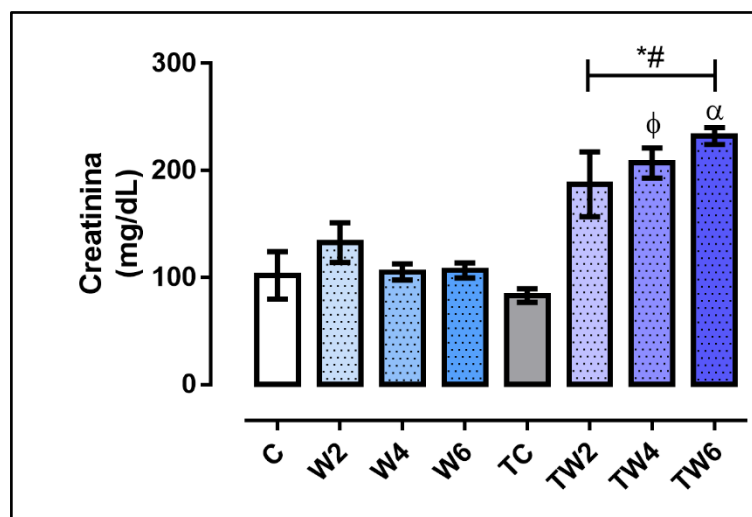


Figura 24 – Representação gráfica da concentração urinária de Creatinina (mg/dL).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos)**: Símbolos indicam maior média ($p < 0,05$) = * vs. C; # vs. TC; φ vs. W4; α vs. W6.

Conforme apresentado na Tabela 6 (Pág. 93) não houve diferença significativa entre os grupos no marcador urinário Proteinúria, tanto de amostra isolada quanto de 24h.

No marcador Creatinina (mg/dL) houve maior concentração na urina dos ratos treinados e suplementados TW2, TW4 e TW6 em relação ao controle sedentário não suplementado, com valores significativos de $p=0,0196$, $p=0,0072$ e $p=0,0002$, respectivamente (Tabela 6, pag. 93 e Figura 24). Semelhantemente os grupos treinados e suplementados também apresentaram maiores valores de concentração de creatinina na urina do que o grupo controle treinado não suplementado ($p=0,0018$, $p=0,0008$ e $p<0,0001$, respectivamente).

Os grupos treinados quando comparados aos grupos controle suplementados com mesma dose, não apresentaram diferença entre as concentrações de Creatinina entre W2 e TW2. Porém, para as doses maiores houve diferença entre os grupos W4 e TW4, e W6 e TW6, havendo maior excreção de Creatinina para os grupos submetidos ao treinamento.

Os grupos treinados e suplementados não apresentaram diferenças entre si na Creatinina urinária. Os grupos sedentários e suplementados que também não apresentaram diferenças entre si.

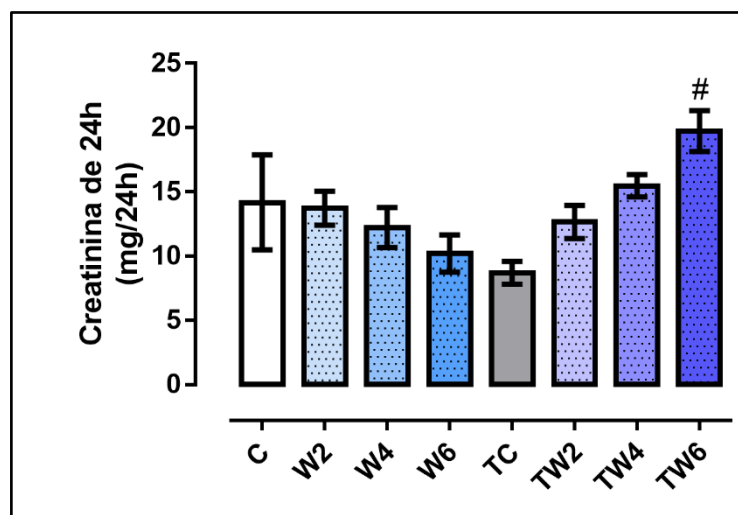


Figura 25 – Representação gráfica da Creatinina de 24h (mg/24h).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos)**: Símbolos indicam maior média (p<0,05) = # vs.TC.

Porém, quando se analisou a Creatinina normalizada pelo volume de urina 24h (Figura 25), todas as diferenças apresentadas na Creatinina em mg/dL, foram normalizadas, havendo apenas diferença estatística entre TC e TW6, indicando maior excreção urinária de Creatinina durante 24h para o grupo TW6 (p=0,0059).

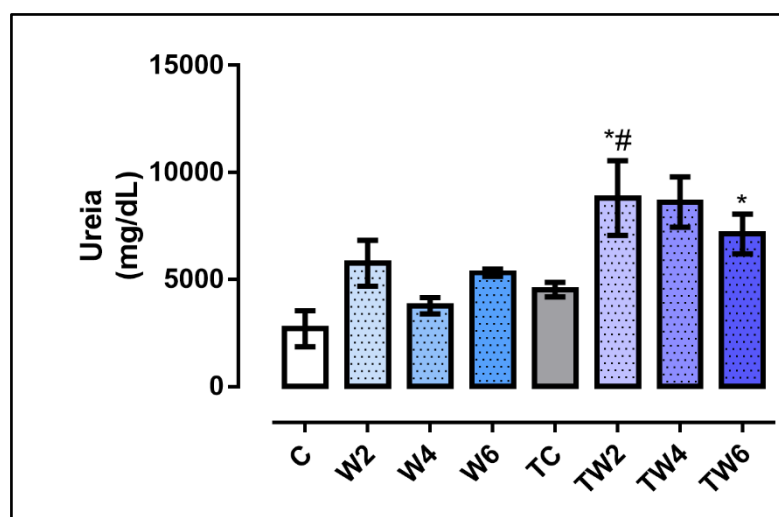


Figura 26 – Representação gráfica da concentração urinária de Ureia (mg/dL)

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos)**: Símbolos indicam maior média (p<0,05) = * vs. C; # vs.TC.

Os resultados de Ureia (mg/dL) (Figura 26) os grupos TW2 e TW4

apresentaram maior concentração de Ureia na amostra de urina em comparação ao controle ($p=0,0018$ e $p=0,0169$, respectivamente). TW2 teve maior concentração de Ureia em relação ao TC ($p=0,0447$). Os grupos controle sedentários não apresentaram diferenças entre si, da mesma forma os grupos treinados e suplementados.

Porém, quando os valores absolutos de Ureia foram normalizados conforme o volume de urina de 24h, não houve diferença significativa entre nenhum dos grupos.

Tabela 7 – Concentração dos biomarcadores séricos Proteína Total, Creatinina, Ureia, Albumina e Ácido Úrico apresentados em média e erro padrão da média.

	C	W2	W4	W6	TC	TW2	TW4	TW6
	(n=10)	(n=10)	(n=7)	(n=5)	(n=10)	(n=9)	(n=6)	(n=7)
Proteína total	6149,10	6248,68	6656,53	8695,04 ^{*\$φγ}	7436,02 [*]	6507,05	6934,54	7130,92
(mg/dL)	±141,67	±96,60	±325,59	±475,42	±172,15	±92,93	±440,43	±485,70
Creatinina Sérica	0,35	0,30	0,48	0,68 ^{\$γ}	0,35	0,50	0,51	0,23
(mg/dL)	±0,08	±0,04	±0,07	±0,12	±0,02	±0,05	±0,08	±0,06
Ureia Sérica	50,44 ^{\$φδγ}	33,74	27,98	37,82	37,19	34,09	34,70	33,18
(mg/dL)	±7,19	±1,73	±1,01	±1,53	±1,36	±2,02	±1,20	±4,30
Albumina	2831,27	2812,96	2367,66	2248,74	2468,04	2441,60	2737,03	2336,36
(mg/dL)	±112,48	±122,68	±50,02	±45,52	±168,23	±74,66	±231,01	±116,15
Ácido Úrico	0,80	0,55	0,80	0,79	0,70	0,91	1,24 ^{*#}	1,20 [#]
(mg/dL)	±0,11	±0,06	±0,04	±0,05	±0,06	0,07	±0,09	±0,15

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos)**: Símbolos na horizontal indicam maior média (p<0,05) = * vs. C; § vs. W2; φ vs. W4; α vs. W6; # vs. TC; δ vs. TW2; γ vs. TW6.

Conforme apresentado na Tabela 7 e ilustrado na Figura 27 (Pág. 98), na Proteína Total foi possível observar algumas diferenças entre os grupos. O grupo controle sedentário, teve concentração sérica de proteína total significativamente menor do que os grupos W6 e TC (p<0,0001 e p=0,0174, respectivamente).

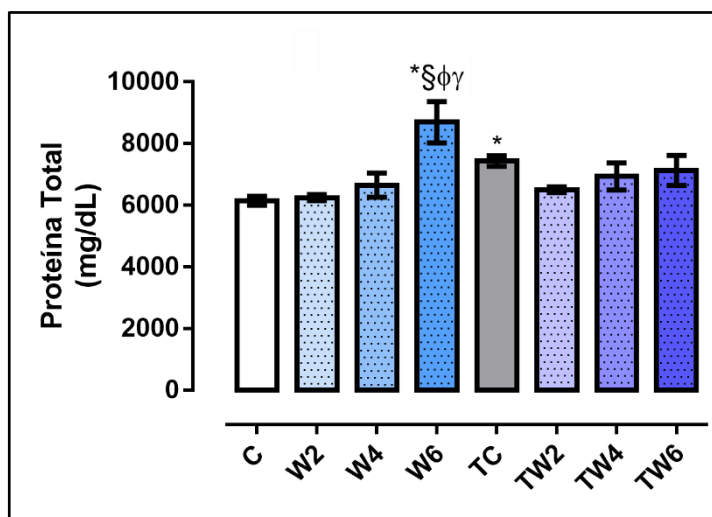


Figura 27 – Representação gráfica da concentração de Proteína Total (mg/dL).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos indicam maior média (p<0,05) = * vs. C; § vs. W2; φ vs. W4; γ vs. TW6.

Entre os grupos suplementados e sedentários, o grupo W2 apresentou menor concentração de proteína total do que W6 (p<0,0001), da mesma forma W4 (p=0,0018). Dentre os grupos treinados e suplementados, somente TW6 apresentou diferença, tendo menor concentração sérica do que o par sedentário W6 (p=0,0351) embora tenham recebido a mesma dose de *whey proteins*.

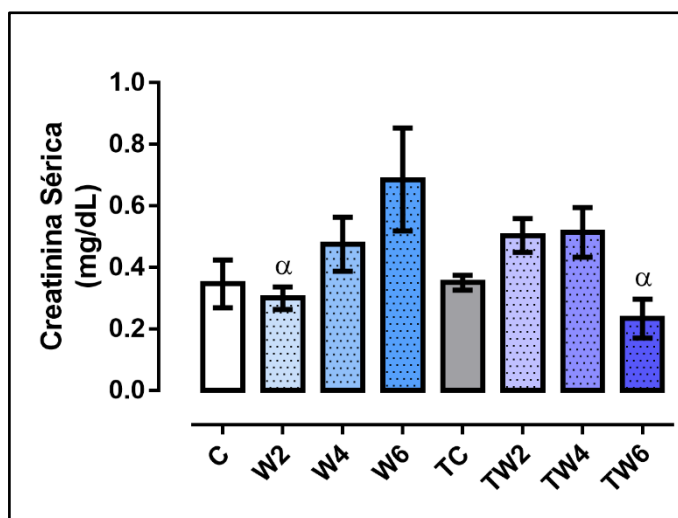


Figura 28 – Representação gráfica da concentração de Creatinina Sérica (mg/dL).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos indicam maior média (p<0,05) = α vs. W6.

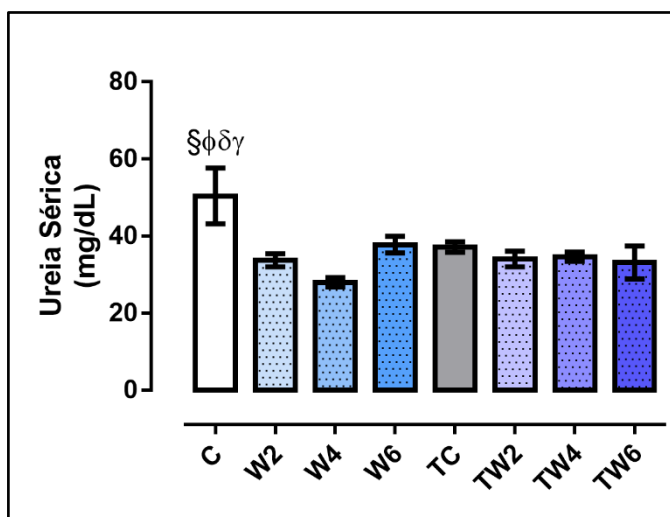


Figura 29 – Representação gráfica da concentração de Ureia Sérica (mg/dL).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos indicam maior média ($p < 0,05$) = § vs. W2; φ vs. W4; δ vs. TW2; γ vs. TW6.

A Creatinina Sérica (Figura 28, pág. 98) apresentou diferença significativa entre W2 e W6, duas diferentes doses em sedentários, sendo maior em W6 ($p=0,0157$). Dentre os grupos treinados e suplementados, apenas TW6 apresentou diferença, tendo menor concentração de Creatinina Sérica do que W6 ($p=0,0057$) mesmo tendo recebido a mesma dose de *whey proteins*.

No marcador Ureia (Figura 29) o grupo controle sedentário e não suplementado, apresentou maior média de concentração sérica em comparação com W2, W4, TW2 e TW6 ($p=0,0190$, $p=0,0018$, $p=0,0301$, $p=0,0346$, respectivamente).

Não houve diferença significativa na concentração sérica de Albumina entre os grupos.

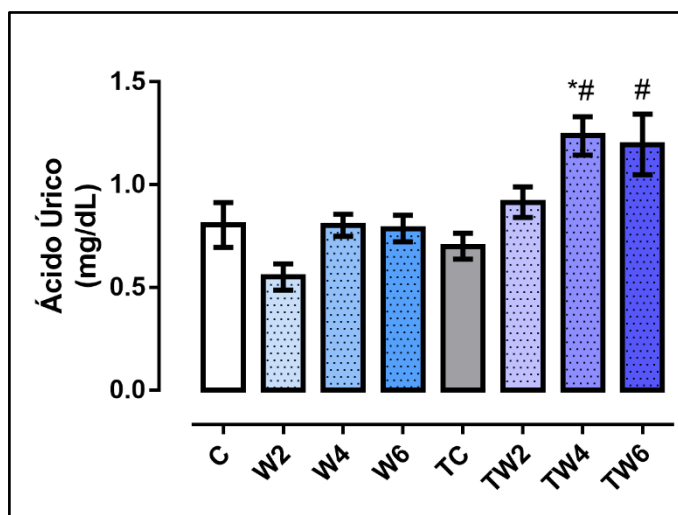


Figura 30 – Representação gráfica da concentração sérica de Ácido Úrico (mg/dL).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos indicam maior média (p<0,05) = * vs. C; # vs. TC.

Sobre o biomarcador Ácido Úrico (Figura 30), foram observadas diferenças na concentração para o grupo TW4, sendo maior que os valores dos grupos C e TC (p=0,0324 e p=0,0032). O grupo TW6 também apresentou maior concentração sérica do que TC (p=0,0050). Porém, entre os grupos controle suplementados e sedentários não houveram diferenças entre eles, sendo também semelhantes ao grupo C. Os grupos treinados e tratados com *whey proteins* não demonstraram diferença estatística entre si, nos níveis de concentração de Ácido Úrico no soro.

Tabela 8 – Equações de estimativa da função renal, com resultados apresentados em média e erro padrão da média.

	C (n=10)	W2 (n=10)	W4 (n=7)	W6 (n=5)	TC (n=10)	TW2 (n=9)	TW4 (n=6)	TW6 (n=7)
Creatinina de 24h ^a (mg/kg)	31,14 ±7,74	38,31 ±2,32	24,24 ±2,59	24,04 ±1,98	18,05 ±1,60	28,51 ±2,55	37,89 [#] ±1,57	45,86 ^{α#} 3,74
Depuração de Creatinina ^b (mL/min)	4,47 ±2,20	3,57 ±0,54	2,34 ±0,49	1,38 ±0,27	1,77 ±0,19	1,87 ±0,27	2,61 ±0,70	8,79 ^{α#δθ} ±2,15
Relação Proteína/Creatinina ^c (mg/mg)	1,49 ^{δθγ} ±0,31	0,95 ±0,13	0,95 ±0,05	0,92 ±0,07	1,30 ^{θγ} ±0,09	0,66 ±0,07	0,53 ±0,06	0,34 ±0,05
Relação Ureia/Creatinina ^d (mg/mg)	236,40 ^{§φα#δθ} ±52,75	121,63 ±11,05	76,88 ±15,97	69,64 ±11,83	110,06 ±7,67	72,58 ±7,12	84,93 ±23,38	187,28 ±30,60

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos na horizontal indicam maior média (p<0,05) = * vs. C; § vs. W2; φ vs. W4; α vs. W6; # vs. TC; δ vs. TW2; θ vs. TW4; γ vs. TW6. **Equações:** a= Creatinina de 24h (mg/24h) / Massa Corporal (Kg); b= [Creatinina Urinária (mg/dL) × Volume (mL/24h)] / Creatinina Sérica (mg/dL); c= Proteinúria (mg/dL) / Creatinúria (mg/dL); d = Ureia sérica (mg/dL) / Creatinina sérica (mg/dL).

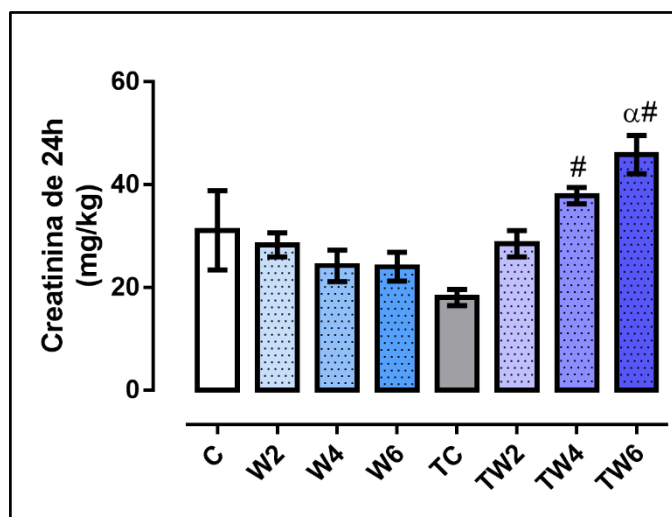


Figura 31 – Representação gráfica da Creatinina excretada por 24h relativa à massa corporal (mg/kg).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos indicam maior média (p<0,05) = α vs. W6; # vs. TC.

Diante do apresentado na Tabela 8 (Pág. 101) e Figura 31, a Creatinina de 24h em mg/kg, apresentou diferença significativa entre os dois grupos tratados com a dose de 6g·kg·dia⁻¹ de *whey proteins*, sendo maior em TW6 (p=0,0487). Entre os grupos treinados, TW4 e TW6 tiveram média maior que TC (p=0,0378 e p=0,0003, respectivamente). Os ratos submetidos a treinamento resitado e tratados com *whey proteins* (TW2, TW4 e TW6) não apresentaram diferenças entre si em relação a Creatinina de 24h relativa à massa corporal.

A Figura 32 (Pág. 103) ilustra a análise de Depuração de Creatinina (*Clearance*) em que dos grupos treinados TW6 apresentou maior média em relação a TC, TW2 e TW4 (p=0,0038, p=0,0060, p=0,0490, respectivamente). TW6 também apresentou maior média em relação ao controle sedentário que recebeu mesma dose (W6) (p=0,0149).

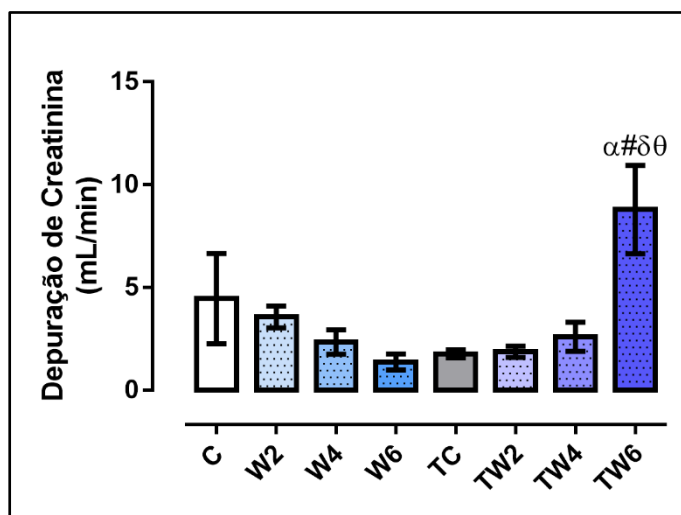


Figura 32 – Representação gráfica da Depuração de Creatinina (mL/min).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos indicam maior média (p<0,05) = α vs. W6; # vs. TC; δ vs. TW2; θ vs. TW4.

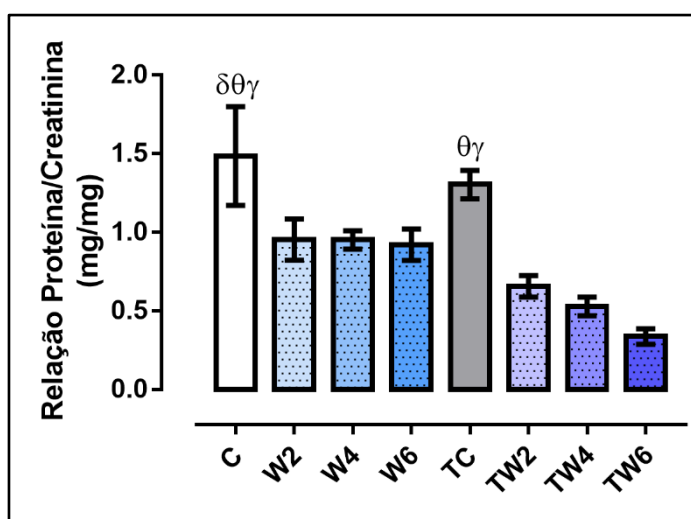


Figura 33 – Representação gráfica da Proteína/Creatinina Urinárias (mg/mg).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos indicam maior média (p<0,05) = # vs. TC; δ vs. TW2; θ vs. TW4; γ vs. TW6.

Na equação de relação da Proteína/Creatinina da urina (Tabela 8, pág. 101 e Figura 33), o grupo controle sedentário não suplementado, teve maior média do que os grupos treinados e tratados com *whey proteins* TW2, TW4 e TW6 (p=0,0061, p=0,0044, p=0,0001, respectivamente). Porém, quando comparados ao grupo treinado controle, houve diferença entre TW4 e TW6 *versus* TC (p=0,0394 e p=0,0021), onde TC também apresentou maior média.

Os grupos sedentários foram semelhantes entre si, e também os treinados e suplementados foram semelhantes entre si, não apresentando diferenças estatísticas nas análises intergrupos para a variável relação Proteína/Creatinina.

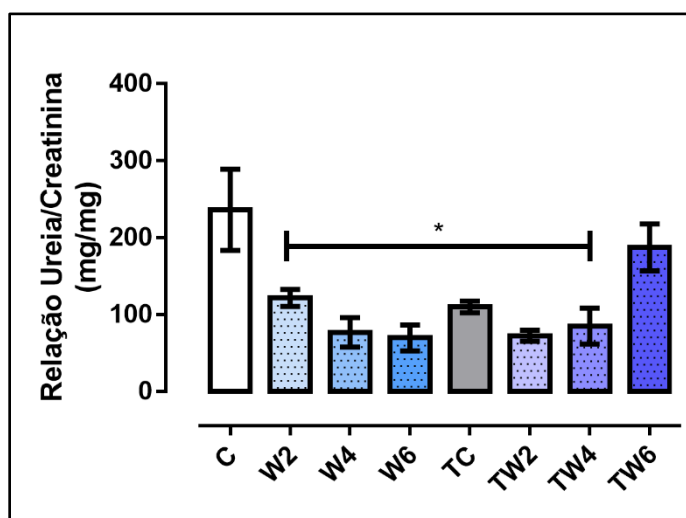


Figura 34 – Representação gráfica da Relação Ureia/Creatinina Séricas (mg/mg).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** * menor média vs. C (p<0,05).

A Relação Ureia/Creatinina sérica (Tabela 8, pág. 101 e Figura 34) se mostrou destacadamente maior para o grupo C em comparação aos grupos: W2 (p=0,0373), W4 (p=0,0031), W6 (p=0,0066), TC (p=0,0150), TW2 (p=0,0008) e TW4 (p=0,0100). Todos os grupos apresentaram diferença em relação ao controle, porém, não tiveram diferenças estatísticas entre si.

Tabela 9 – Valores de peso absoluto e relativo do rim direito, e raios glomerulares apresentados em média e erro padrão da média.

	C (n=10)	W2 (n=10)	W4 (n=7)	W6 (n=5)	TC (n=10)	TW2 (n=9)	TW4 (n=6)	TW6 (n=7)
Rim (g)	1,41 ±0,04	1,68 ^{*αδ} ±0,07	1,69 ^α ±0,06	1,28 ±0,11	1,55 ±0,06	1,33 ±0,05	1,40 ±0,10	1,44 ±0,05
Rim relativo (%) ^a	0,30 ±0,01	0,35 ±0,01	0,34 ±0,01	0,30 ±0,02	0,32 ±0,01	0,30 ^δ ±0,01	0,34 ±0,02	0,33 ±0,01
Raio dos Glomérulos (µm)	45,74 ±0,68	43,14 ±0,67	50,0 ^{*§θ} ±0,8	50,20 ^{*§} ±0,84	44,66 ±0,64	45,77 ±0,59	46,55 ±0,41	48,41 [#] ±0,68

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos na horizontal indicam maior média (p<0,05) = * vs. C; § vs. W2; φ vs. W4; α vs. W6; # vs. TC; δ vs. TW2; θ vs. TW4; γ vs. TW6. **Equações:** a= [peso do rim (g) / Massa Corporal (g)] × 100.

Conforme apresentado na Tabela 9 e ilustrado na Figura 35 (Pág. 106), o peso absoluto dos rins do grupo W2 foi significativamente maior do que C (p=0,0403), e do que W6 (p=0,0054). Quando W2 foi comparado ao grupo treinado e suplementado com mesma dose, houve diferença significativa, sendo que W2 teve maior média de peso do rim do que TW2 (p=0,0043).

Porém, as diferenças apresentadas no peso absoluto dos rins são diluídas em sua maioria quando analisadas em medida relativa (%), mantendo somente a diferença entre W2 e TW2 (p=0,0294), que embora tenham sido tratados com a mesma dose de *whey proteins*, o grupo W2 apresentou maior peso do rim relativo à massa corporal (Figura 36, pag. 106).

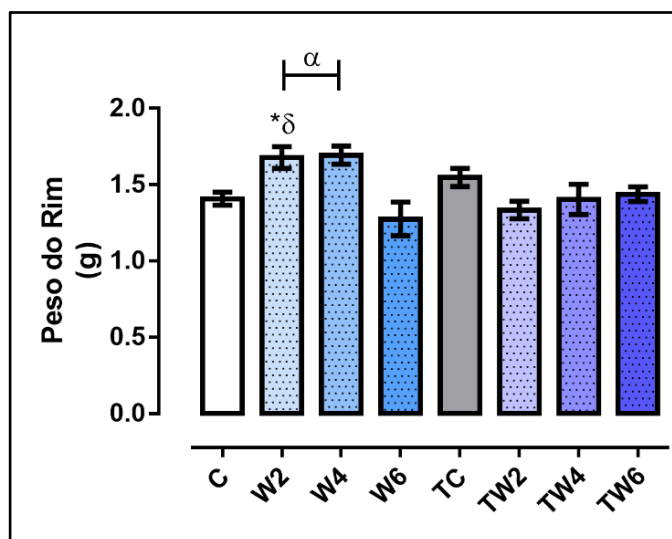


Figura 35 – Representação gráfica do Peso do rim em valor absoluto (g).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos na horizontal indicam maior média ($p < 0,05$) = * vs. C; α vs. W6; δ vs. TW2.

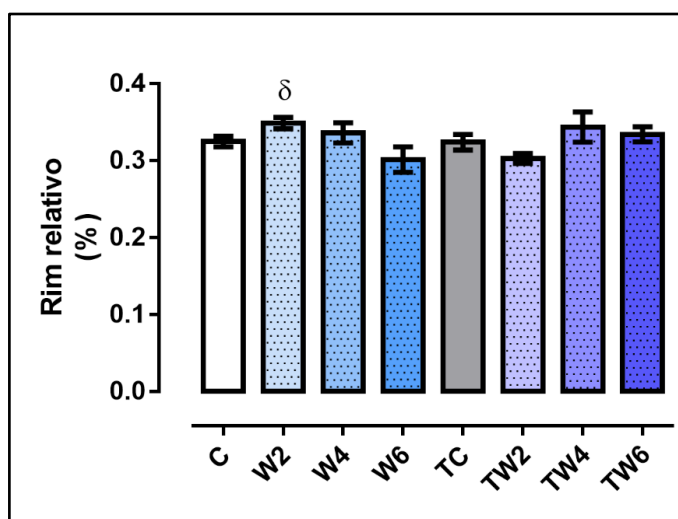


Figura 36 – Representação gráfica do Rim em valor relativo à MCT (%).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos na horizontal indicam maior média ($p < 0,05$) = * vs. C; § vs. W2; α vs. W6; # vs. TC; δ vs. TW2; θ vs. TW4; γ vs. TW6.

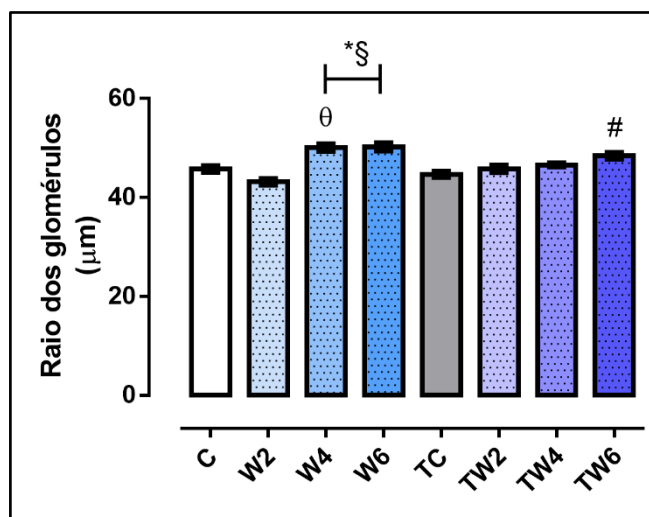


Figura 37 – Representação gráfica do Raio dos Glomérulos (μm).

C = Controle Sedentário não suplementado; W2 = Sedentário+2g·kg·dia⁻¹; W4 = Sedentário+4g·kg·dia⁻¹; W6 = Sedentário+6g·kg·dia⁻¹; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado+2g·kg·dia⁻¹; TW4 = Treinado+4g·kg·dia⁻¹; TW6 = Treinado+6g·kg·dia⁻¹. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (Intergrupos):** Símbolos na horizontal indicam maior média ($p < 0,05$) = * vs. C; § vs. W2; θ vs. W4; α vs. W6; # vs. TC; δ vs. TW2; θ vs. TW4; γ vs. TW6.

Nos raios dos glomérulos (Figura 37), W2 (Figura 38, pág. 108, imagem B) teve menor média ($p < 0,0001$) do que W4 (Figura 38, imagem C) e W6 (Figura 38, pág. 108, imagem D) ($p < 0,0001$), porém W4 e W6 não apresentaram diferenças entre si, embora o peso absoluto do rim em W4 tenha sido maior do que W6 ($p = 0,0073$).

Sobre os efeitos da suplementação e treinamento resistido, houve diferença entre TC e TW6 (Figura 39, pág. 109, imagens E e H), onde o grupo tratado com *whey proteins* teve maior valor médio dos raios glomerulares ($p = 0,0060$).

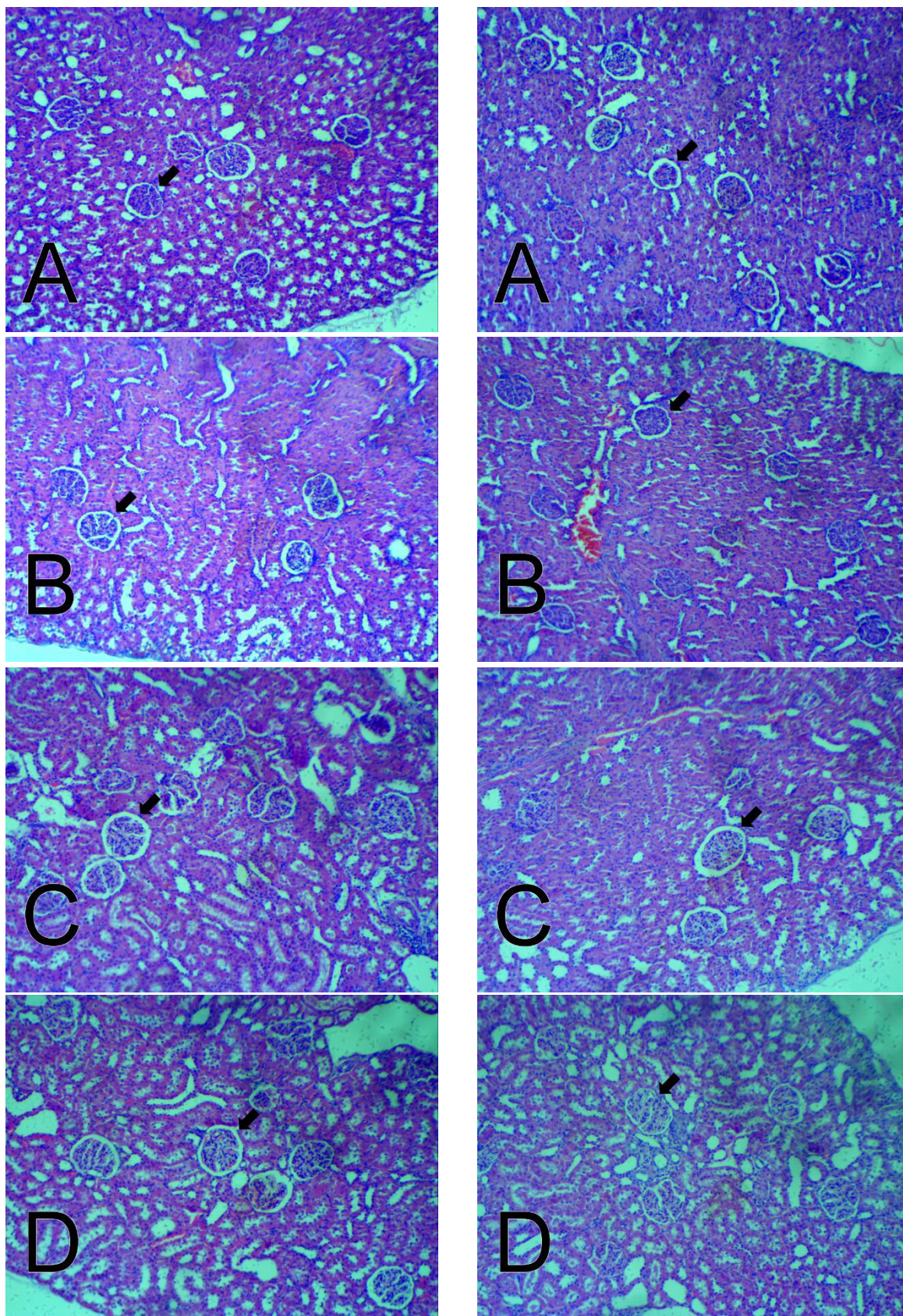


Figura 38 – Imagens dos glomérulos dos grupos sedentários (Obj. 10×, H&E).

A: Controle não suplementado; B: $2\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$; C: $4\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$; D: $6\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$.

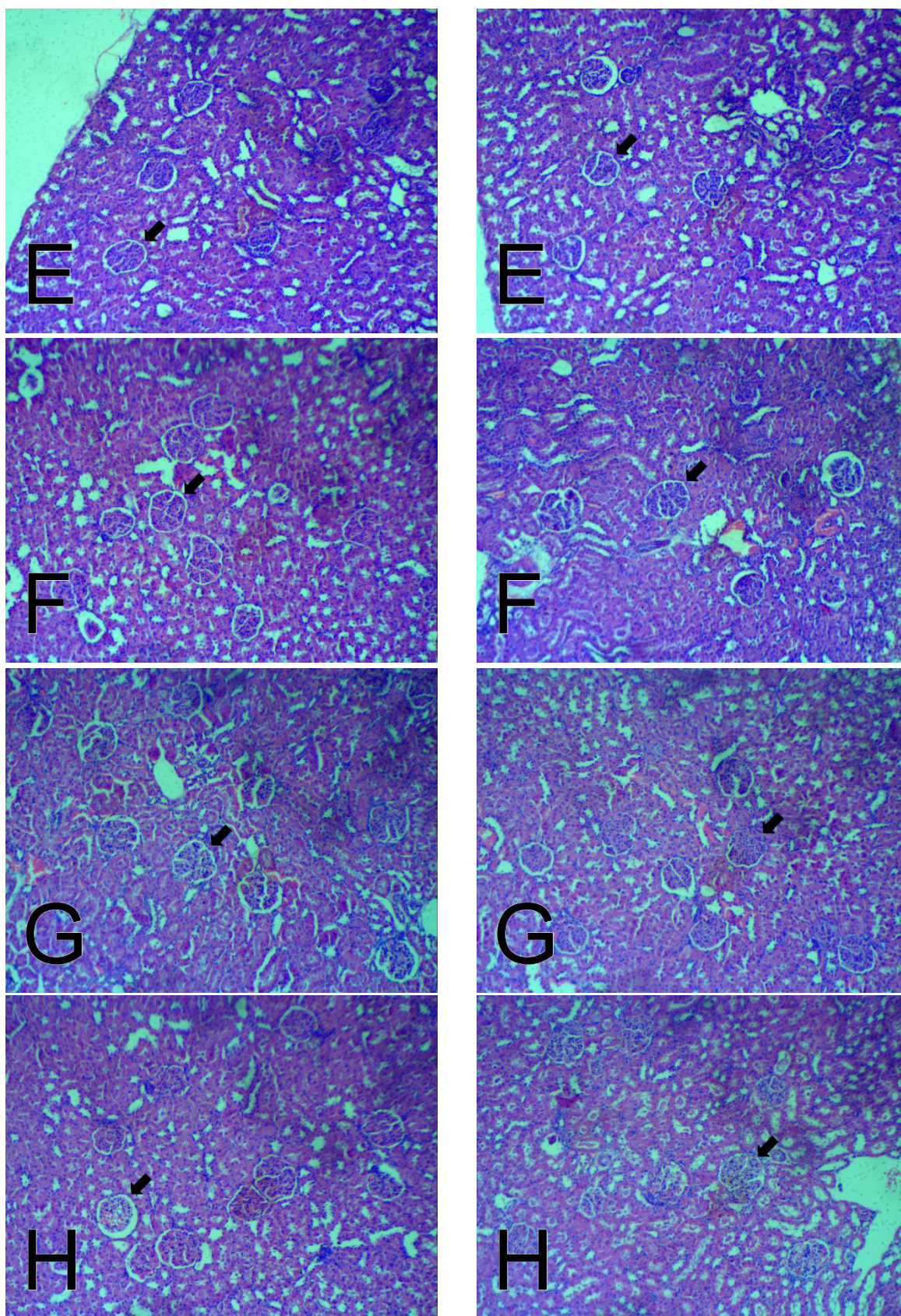


Figura 39 – Imagens dos glomérulos dos grupos treinados (Obj. 10×, H&E).

E: Controle Treinado não suplementado; F: Treinado+2g·kg·dia⁻¹; G: Treinado+4g·kg·dia⁻¹; H: Treinado+6g·kg·dia⁻¹.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, após 12 semanas de suplementação com *whey proteins* em doses de 2, 4 e 6 g·kg·dia⁻¹ e treinamento resistido, avaliamos a excreção de analitos relacionados a função renal em ratos Wistar machos jovens, através de coleta de urina de 24h. Inicialmente realizamos análise semiquantitativa com tiras reagentes para determinação de pH, Densidade, Proteinúria e glicosúria, marcadores amplamente comuns na prática clínica inicial de diagnóstico de doenças renais.

Durante o período de coleta de urina de 24h tivemos o cuidado de mensurar a ingestão de ração e também a ingestão hídrica, haja vista que podem ser fatores que influenciam nos marcadores analisados.

Ao findar do período experimental de 12 semanas, os ratos foram eutanasiados e assim obtemos o soro para análise de marcadores renais séricos, além da extração do rim para mensuração do raio glomerular, uma forma de avaliação da hipertrofia renal.

Observamos que também seria relevante, determinar por meio de equações de diagnóstico precoce a função renal dos ratos, determinados então a Creatinina corrigida pelo kg de peso, haja vista que a excreção de Creatinina é fortemente influenciada pela massa corporal e volume muscular. Também calculamos a relação proteína/Creatinina, equação com forte correlação com o padrão ouro de proteína de 24h, além de que detecta mais precocemente alterações. Determinamos também a relação Ureia/Creatinina e depuração de Creatinina como estimativa da filtração glomerular dos ratos.

Encontramos que todos os grupos ganharam Massa Corporal ao final das 12 semanas, porém como no momento inicial houveram algumas variações de média entre os grupos, calculamos o Δ da variável massa corporal, e encontramos maior destaque de aumento para o grupo W4 sendo maior somente entre o C e TW4.

Embora tenham recebido a mesma dose, podemos inferir que o treinamento possa ter exercido efeito de controle ponderal para a dose de 4g de *whey proteins* por dia, conseqüentemente também houve aumento do valor absoluto de consumo de *whey proteins* ao final das 12 semanas (Tabela 2).

O resultado de massa corporal do presente estudo foi semelhante ao do estudo de 6 semanas de Chen et. al. (2014) em que camundongos treinados e

suplementados tiveram massa corporal total menor ao final do estudo em relação aos grupos não suplementados. Tal resultado é semelhante ao estudo de Franzen et. al. (2016), sobre dose de *whey proteins* e marcadores bioquímicos relacionados à composição corporal.

No presente estudo todos os grupos treinados aumentaram a força em relação a $\Delta S2$, porém o grupo TW4 apresentou uma curva de aumento de carga entre os testes mais acentuada do que os outros grupos. Um dos estudos encontrados na revisão, com suplementação de *whey proteins* e treinamento resistido, não apresentaram os resultados de força (Chen et. al., 2014).

Porém no estudo de Aparício et. al. (2014b) também houve aumento da força em estudo de 12 semanas, corroborando com nossos achados. Os ratos não eram suplementados com *whey proteins*, mas receberam proteína da soja enriquecida na ração (10%), porém o objetivo do autor era verificar os efeitos do treinamento resistido de alta intensidade sob a saúde renal de ratos, e encontrou que o modelo de treinamento utilizado (resistido de alta intensidade) apresentou aumento da área glomerular, concluindo assim que o estresse induzido pelo exercício pode ter causado tal efeito morfológico, divergindo do presente estudo.

Em nosso estudo, os raios glomerulares apresentaram maior média nos grupos W4, W6 e TW6. Entre os sedentários, esse efeito teve destaque a ponto de W4 e W6 terem raios glomerulares significativamente maiores do que C e W2, sugerindo assim que a suplementação com $2\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ em ratos sedentários não proporcional alteração morfológica, enquanto que para W4 e W6, embora não sejam diferentes entre si, apresentaram alteração morfológica. Ao que parece, para os grupos treinados observou-se efeito do treinamento em atenuar o aumento glomerular para a dose de $4\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$.

W4 apresentou maior raio glomerular do que seu par treinado (TW4). Porém entre os pares de mesma dose W6 e TW6 não houve diferença significativa, mas TW6 teve maior raio glomerular do que TC, sugerindo assim que o treinamento não foi suficiente para atenuar a alteração glomerular para a dose de $6\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$.

Chen et. al. (2014), suplementou camundongos com $4,1\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ também por gavagem, semelhante ao nosso método e dose, porém em período de 6 semanas. Os camundongos foram treinados com carga em modelo de natação. Das variáveis verificadas semelhantes ao nosso estudo, a Creatinina sérica foi maior para o grupo sedentário não suplementado do que para o treinado não suplementado, e a Ureia

sérica foi maior no grupo sedentário suplementado do que para o treinado suplementando.

Tal efeito, pode ter sido devido a associação do treinamento com dietas hiperproteicas causando melhor resposta anabólica, porém seria necessário ter verificado a excreção e/ou balanço nitrogenado. Semelhante aos resultados de Chen et. al. (2014), a Ureia sérica em nosso grupo controle não suplementado foi maior do que todos os outros grupos do presente estudo, porém quando analisamos a excreção observamos que houveram diferenças nos valores absolutos de Ureia em amostra isolada (mg/dL) indicando maior excreção para os grupos TW2, TW4 e TW6, podendo sugerir maior degradação de proteínas, talvez uma condição momentânea causada pelo treinamento resistido de alta intensidade. Porém quando normalizada para 24h, o marcador Ureia não apresentou diferenças entre os grupos.

Sobre a Creatinina sérica do presente estudo, notamos que o grupo W6 teve maior concentração do que W2 e TW6, porém no estudo de Chen et. al. (2014) apesar de ser com dose de $4\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ não demonstrou efeito de aumento da Creatinina sérica em nenhum dos grupos, semelhantes aos achados do presente estudo, para a mesma dose.

Em adição ao estudo de Chen et. al. (2014), na variável de peso absoluto do rim o grupo treinado e suplementado com $4\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* teve menor média do que os sedentários e sedentários suplementados, porém esse efeito não foi observado quanto ao peso relativo do rim foi avaliado, corroborando com os nossos achados, porém no peso relativo do rim apenas W2 foi maior que TW2.

No estudo de Nebot et. al., (2014), com ratos sedentários tratados com *whey proteins* por 12 semanas, verificou as variáveis de volume de diurese e pH urinário. O volume de diurese de 12h dos grupos tratados com $1,62\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ (baixa dose) foi em média 3,92 mL e para os grupos tratados com $6,74\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ (alta dose) foi de 4,43mL semelhantes aos valores do nosso estudo (7,67 a 12,46 mL / 24h) (Tabela 4). Em relação ao pH urinário tanto para baixa dose quanto para alta dose os valores giraram em torno de 6,5 sendo caracterizado como um pH mais ácido, diferente do nosso estudo que todos os ratos tiveram pH entre 8 a 9 (alcalino) (Tabela 5).

Semelhantemente, Aparício et. al. (2014b) verificou o volume de diurese e pH, porém a coleta da urina foi também foi de 12h, semelhante ao estudo de Nebot et. al. (2014). Em contrapartida, o estudo de Aparício et. al. (2014b) foi com treinamento resistido e sem suplementação de *whey proteins*, demonstrando valores de diurese

médios de 0,36 mL/h (4,32 mL) para o grupo treinado em alta intensidade e diurese de 0,23 mL/h (2,76 mL) diferindo em relação ao presente estudo para o grupo sedentário.

No estudo de Aparício et. al. (2014b) os valores de pH foram na ordem de 6,84 para o grupo treinado e 7,25 para o sedentário, diferentes do nosso estudo (Tabela 5).

Diante dos estudos apontados que avaliaram pH, é relevante inferir que a manutenção do pH ácido pode indicar melhor capacidade de filtração do sangue pelos rins, pois a urina ácida indica uma excreção adequada dos resíduos do metabolismo, mantendo o meio interno (sangue) mais alcalino.

Vale ressaltar que dietas com teor de proteína elevado em condições normais o pH deve ser mais ácido devido ao aumento de excreção de N e H^+ , diferente do que encontramos em nosso estudo. Logo, nossos resultados de pH não corroboram com os resultados de Nebot et. al. (2014) que obteve pH ácido como resultado de dose de $6,74g \cdot kg \cdot dia^{-1}$. Embora a dose seja semelhante à nossa dose mais elevada, todos os ratos do presente estudo apresentaram pH alcalino.

Porém, na prática clínica é importante aliar no sumário de urina os resultados de pH e Densidade, além do estado de hidratação do paciente, haja vista que tem relação com o equilíbrio ácido-base e com a função tubular normal.

Sobre isso, verificamos no presente estudo que durante a coleta de urina de 24h não houve diferenças na ingestão de água entre os grupos, e embora os ratos tenham perdido peso durante a estadia na gaiola metabólica, também não apresentaram diferenças significativas da massa corporal entre os grupos, bem como na quantidade de ração consumida nas 24h de teste. Então podemos afirmar que todos os grupos estavam na mesma condição de estresse, durante o teste de urina de 24h, haja vista que não houveram diferenças em nenhuma das variáveis físicas medidas.

A Densidade da urina (Tabela 5) no nosso estudo teve valores da ordem de 1.000 a 1.015. Embora a Densidade indique a capacidade do túbulo em concentrar ou diluir o filtrando, levou-se em consideração em nosso estudo a ingestão de água que pode influenciar nos valores de Densidade, observando que não houve diferença na ingestão de hídrica no teste de urina de 24h entre os grupos e os valores de Densidade indicam urina diluída (Tabela 5).

A glicosúria é um marcador que pode indicar lesão no túbulo proximal renal quando associada a ausência de hiperglicemia. Em nosso estudo os ratos não

apresentaram glicose na urina no método utilizado (Tabela 5), corroborando com o estudo Lerco (2003) em que os ratos do grupo controle após 12 semanas não apresentaram glicose na urina quando mensurada em tira reagente.

A Proteinúria mensurada em tira reagente, mostrou uma tendência de aumento proporcional ao aumento da dose por grupo, demonstrando uma migração à diminuição da concentração nos grupos treinados dose de *whey proteins* administrada. Porém a Proteinúria em amostra isolada e Proteinúria / 24h não apresentaram diferenças entre os grupos.

Em associação, a Proteína Total demonstrou maior concentração no grupo W6, mas no marcador Albumina não houve diferença. Porém quando calculamos a relação proteína/Creatinina é possível observar com mais clareza o efeito indicado pela análise de tira reagente. Os grupos controle C e TC apresentaram maiores médias, porém em comparação com os sedentários observou-se decaimento da relação. Nos grupos treinados o efeito foi o mesmo, porém em maior decaimento, sugerindo assim um efeito protetor renal inversamente proporcional à dose. A relação proteína/Creatinina é uma equação de estimativa que possui correlação ótima com a Proteinúria de 24h.

Diante de relatos de efeito protetor renal, Peng et. al. (2012) induziu Doença Renal com doxorrubicina em ratos treinados após tratamento prévio de *whey proteins*. Em período de 11 semanas foram coletados sangue e urina a cada duas semanas. Os ratos com DRC induzida apresentaram edema renal com peso do rim aumentado para os grupos sedentário, enquanto que os grupos treinados com DRC induzida, apresentaram melhoria parcial. Também, os ratos treinados apresentaram menor volume glomerular. O estudo concluiu que o treinamento físico intenso proporciona melhor resultado sobre o edema renal.

Em adição, outros marcadores como BUN sérico apresentou aumento nos ratos com DRC. Enquanto os ratos treinados e com DRC induzida tiveram redução parcial (Peng et. al., 2014).

Porém a Ureia sérica no presente estudo só aumentou para o grupo controle sedentário. Já o ácido úrico sérico no estudo de Peng et. al. (2014) não apresentou nenhuma diferença, diferente do presente estudo que foi observado que TW4 teve maior concentração do que C. TW6 também teve maior concentração de ácido úrico do que TC, podendo ser devido as doses aumentadas.

Haja vista que o *whey proteins* é rico em xantina oxidase (10% do conteúdo)

enzima que catalisa a oxidação de purinas a Ácido Úrico, aumentando assim proporcionalmente a concentração de Ácido Úrico no soro (Sgarbieri, 2005). A concentração aumentada no presente estudo pode ter associação com a baixa excreção desse analito e aumento da ingestão de *whey* causando assim um quadro denominado de hiperuricemia, que pode causar formação de cálculos renais quando associadas a marcadores como pH anormalmente ácido. Porém no presente estudo os valores de pH foram classificados como alcalinos (Aparício et. al., 2011; Lollo et. al. 2012).

Semelhantemente ao estudo de Peng et. al. (2014), ratos sedentários suplementados com $6,74\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de *whey proteins* apresentaram maior concentração de Ureia sérica do que os ratos normais, sendo tal resultado semelhante ao de ratos com DRC induzida não suplementados (Nebot et. al. 2014).

Também no mesmo estudo de Peng et. al. (2014) a Creatinina sérica nos grupos com DRC induzida aumentou, mas a albumina sérica não apresentou diferença. Os resultados de albumina corroboram com o presente estudo, porém os de Creatinina sérica do presente estudo encontramos que W6 teve maior concentração, sendo ainda significativa em comparação com o C e TW6.

Porém, ressaltamos ainda que conforme as recomendações de avaliação da função renal descritas no referencial, verificamos assim depuração do marcador, assim como mensuramos em urina de 24h. Além de que também normalizamos os resultados de Creatinina proporcionalmente à massa corporal do rato e verificamos ainda o comportamento associado à Proteinúria por meio da relação proteína/Creatinina.

Sabendo que a Creatinina somente se eleva tardiamente diante de quedas bruscas da TFG, a Creatinina/24h urinária se demonstrou superior para o grupo TW6, mas ainda graficamente (Figura 26) observamos uma tendência ao decaimento da excreção para os grupos sedentários proporcional ao aumento da dose, enquanto para os grupos treinados a tendência por inversa. A Creatinina de 24h aumentou para os grupos treinados suplementados proporcional ao aumento da dose.

Porém, vale lembrar-mos que a Creatinina por não ser um marcador adequado para verificação da excreção em ratos submetidos ao treinamento resistido de alta intensidade e suplementados, haja vista que os valores aumentados podem ser devido aos efeitos anabólicos do treinamento associado à suplementação de *whey proteins* (Gualano 2008a; 2008b; Kreider et. al., 2017).

Desta maneira os resultados de Creatinina de 24h proporcional a massa corporal do rato (mg/kg), os resultados demonstraram o mesmo efeito da Creatinina 24h, porém, houveram mais diferenças significativas. TW6 teve maior excreção de Creatinina por kg de peso, do que W6 embora suplementados com mesma dose, e também maior que TC. Também o grupo TW4 teve maior excreção de Creatinina por kg de peso maior do que o controle treinado (TC).

Porém o *Clearance* de creatinina (Depuração, TGF) verificamos que somente o grupo TW6 apresentou maior destaque. Tendo maior excreção (mL/min) do que seu par com mesma dose W6 e todos os grupos treinados TC, TW2, TW4 e TW6 indicando maior funcionalidade da filtração proporcional à quantidade de Creatinina necessária a ser excretada por dia, e não necessariamente uma lesão.

Aliado a isso, a relação Proteína/Creatinina demonstrou tendência ao decaimento proporcional ao aumento da dose, sendo ainda mais atenuada quando aliada ao treinamento. Os grupos controle não suplementados (C e TC) apresentaram maior relação Proteína/Creatinina. Porém quando a Creatinina foi associada a Ureia (Ureia/Creatinina séricas) somente TW6 não foi menor do que o C.

Observamos ainda que dentre os ratos treinados TW6 apresentou maior hipertrofia glomerular, apresentando diferença em relação ao TC. Nos sedentários W4 e W6 apresentaram destaque sob C, W2 e TW4. Sugerindo um efeito protetor do treinamento para as doses de $4\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$, e $6\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ parcialmente.

No estudo de Haraguchi et. al. (2009), com ratos *fischer* sendo administrado ração com fonte proteica de *whey proteins*, a concentração sérica de Ureia não apresentou diferença significativas entre os grupos. Em relação à concentração de Creatinina sérica os grupos de dietas *whey proteins* (PS) e *whey proteins* e hipercolesterolemiantes (PSH) também não apresentaram diferença significativa com o tratamento, diferente dos nossos resultados, como já mencionados apresentaram diferenças principalmente nas medidas relativas de Creatinina excretada. Ressaltamos ainda que o estudo de Haraguchi et. al. (2009) não verificou a excreção dos analitos, ou como a Creatinina se comportou em relação ao peso do rato.

Em Franzen et. al. (2016), com ratos tratados com dose baixa de proteína (10% de *whey* em ração) não houve diferença significativa de concentração de Creatinina e Ureia séricas quando comparados entre os grupos, divergindo dos nossos achados. Porém nosso estudo utilizou de altas doses de *whey proteins*.

No estudo de Haraguchi et. al. (2009), com ratos *fischer* sendo administrado

ração com fonte proteica de *whey proteins*, a concentração sérica de Ureia não apresentou diferença significativas entre os grupos. Em relação à concentração de Creatinina sérica os grupos de dietas *whey proteins* (PS) e *whey proteins* e hipercolesterolemiantes (PSH) também não apresentaram diferença significativa com o tratamento, diferente dos nossos resultados, como já mencionados apresentaram diferenças principalmente nas medidas relativas de Creatinina excretada. Ressaltamos ainda que o estudo de Haraguchi et. al. (2009) não verificou a excreção dos analitos, ou como a Creatinina se comportou em relação ao peso do rato.

Em Franzen et. al. (2016), com ratos tratados com dose baixa de proteína (10% de *whey* em ração) não houve diferença significativa de concentração de Creatinina e Ureia séricas quando comparados entre os grupos, divergindo dos nossos achados. Porém nosso estudo utilizou de altas doses de *whey proteins*.

No estudo de Nunes et. al. (2013), realizado com ratos Wistar submetidos a treinamento resistido de agachamento em intensidade de 65-75% de 1RM, receberam doses de 1,8 g·kg·dia de *whey proteins*, onde demonstrou aumento significativo da Creatinina sérica no grupo sedentário e suplementado SEDW ($p<0,05$) em relação aos grupos sedentário (SED), treinado não suplemento (TR) e treinado e suplementado (TRW), os demais grupos não apresentaram diferença entre si, semelhante ao nosso estudo. Vale ressaltar que a intensidade do treinamento foi menor em relação ao nosso estudo, além de que torna-se ainda importante a continuação da pesquisa na investigação em grupos sedentários e suplementados.

No estudo de Aparício et. al. (2014a), realizado com ratos Wistar sedentários e que receberam baixa dose de *whey proteins* (10%) e de proteína de soja (10%), não apresentaram entre si diferença significativa na Ureia sérica, porém apresentaram diferença nas proteínas totais ($p<0,001$) em que o grupo que recebeu *whey proteins* teve média mais elevada, em nosso estudo W6 apresentou maior média de concentração de proteína total, sendo maior que C, W2 e W4, não apresentando diferenças em relação a TW6.

Dos Santos et. al. (2016) em seu estudo com ratos sedentários, com grupos suplementados em baixa dose de *whey* (0,45 g·kg·dia) e dose de *whey* a 1,8 g·kg·dia, não apresentaram valores significativos de Ureia e Creatinina séricas, diferindo também dos nossos achados, porém as doses administradas foram menores do que as utilizadas no presente estudo, não havendo ainda tratamento com treinamento resistido.

Buscamos ainda verificar os valores médios diante de estudos de padronização de avaliação bioquímica em biotérios, com ratos que não sofreram tratamento experimental com *whey proteins* e treinamento.

Em um estudo de padronização da avaliação renal em ratos wistar em biotério, De Castro et. al., (2014), realizou coleta de urina de 24h em gaiola metabólica. Os valores médios de Proteinúria/24h (8,8 mg/dL) foi semelhante ao dos nossos grupos tratados com *whey proteins* e treinados TW2, TW4 e TW6 (Tabela 6), diferindo em comparação aos nossos grupos sedentários suplementados W2, W4 e W6.

Porém, os valores absolutos de Creatinina na urina foram menores (88,5 mg/dL) no estudo de De Castro et. al. (2014) em comparação ao nosso estudo, pois obtivemos valores médios muito superiores principalmente para os grupos treinados e suplementados (Tabela 6). Os valores séricos de Creatinina no estudo citado (0,5 mg/dL) foram semelhantes em relação aos grupos do nosso estudo, exceto para W6 que teve valor superior (0,68mg/dL) (Tabela 7).

Novamente em um estudo de padronização de avaliação bioquímica em ratos wistar em biotério, os marcadores séricos Creatinina e Ureia, avaliados no estudo de Santos et. al. (2010), os valores médios de Creatinina sérica (0,6 mg/dL) foram diferentes do presente estudo, pois obtemos valores menores, assemelhando-se apenas ao valor médio do grupo W6 (Tabela 7).

A Ureia sérica (35,2 mg/dL) no estudo de Santos et. al. (2010) foi semelhante aos grupos do nosso estudo, exceto para o grupo C (50,44mg/dL) (Tabela 7).

Os resultados do presente estudo não corroboram também com o estudo de Lima et. al. (2014) que avaliou ratos wistar de biotério obtendo Creatinina média de 0,58 mg/dL e Ureia de 39,9 md/dL.

Sobre a Creatinina, já se tem determinado que a excreção desse analito é proporcional à massa muscular, por ser produto final da creatina e fosfocreatina. Tanto que, nos resultados encontrados da excreção de Creatinina na urina observou-se que os grupos treinados TW2, TW4 e TW6 apresentaram maior excreção de Creatinina do que o Controle sedentário e controle treinado. Efeito que pode ser explicado talvez por diferenças da composição corporal medidas pelo treinamento resistido e suplementação de *whey proteins* sobre a hipertrofia do músculo esquelético. Também, devido à resíduos de creatina terem aumento proporcional à contração muscular e uso da creatina/fosfocreatina para o treinamento resistido, explicando assim a excreção aumentada do resíduo.

Observou-se também maior excreção de Creatinina, quando observados os grupos TW4 e TW6 comparados aos controle sedentários que receberam mesma dosagem (W4 e W6), indicando assim que a maior excreção de Creatinina pode ter sido efeito do treinamento resistido e contração muscular, ou aumento da massa muscular, corroborando também com os resultados de peso máximo carregado observados, em que o grupo TW4 demonstrou maior média de aumento de carga carregada ao longo das 12 semanas.

No presente estudo, na Proteinúria observamos que no período de 12 semanas houve uma tendência a maior excreção nos grupos sedentários, e menor excreção para os grupos treinados, tanto nas tiras reagentes quanto na análise espectrofotométrica, e também para equações de estimativa da relação proteína/Creatinina. Sugerimos então que a proteína em excesso da dieta em todos os grupos treinados pode ter sido direcionada para hipertrofia muscular em resposta ao estímulo mecânico do treinamento resistido.

Isso afirma ainda mais a relevância em maiores investigações relacionando carga/intensidade de treinamento, doses baixas, médias e altas de *whey proteins*, efeitos a curto, médio e longo prazo sob a hipertrofia muscular e efeitos sobre a função renal em ratos sedentários.

A ingestão de doses acima das recomendações, devem ser administradas com cautela em sedentários, mesmo que não haja predisposição ao desenvolvimento de doenças renais, haja vista que os estudos apresentados no referencial e na discussão, utilizam como parâmetro a avaliação em sua maioria os marcadores de Creatinina e Ureia.

8 CONCLUSÃO

Diante do objetivo apresentado, avaliamos a função renal de ratos Wistar submetidos a suplementação de doses de 2, 4 e 6g·kg·dia de *whey proteins* e submetidos a treinamento resistido e encontramos que a suplementação com doses de 2, 4 e 6g·kg·dia⁻¹ demonstrou alterações de parâmetros renais principalmente de excreção de proteínas, bem como a relação proteína/Creatinina.

A excreção de proteínas se mostrou à dose, demonstrando menor excreção quando associadas ao treinamento resistido. Tais efeitos foram observados na análise da urina em tiras reagentes, e apresentaram mesmo efeito na análise colorimétrica.

Além disso observou-se hipertrofia glomerular com medidas dos raios dos glomérulos com valor superior para os grupos W4, W6 e TW6, porém observou-se que o treinamento resistido de alta intensidade atenuou a hipertrofia renal para as doses de 4g·kg·dia⁻¹ e parcialmente para a dose 6g·kg·dia⁻¹.

Sendo assim, confirmamos parcialmente hipótese afirmativa da pesquisa, pois os grupos sedentários suplementados com doses de 4 e 6g·kg·dia⁻¹ de *whey proteins* apresentaram efeitos deletérios em parâmetros bioquímicos e morfológicos renais.

Concluimos com base nos resultados que o consumo aumentado de *whey proteins* nas doses de 4 e 6g·kg·dia⁻¹ demonstrou efeitos prejuízo à função renal de ratos sedentários, sendo reafirmado pela hipertrofia glomerular mensurada.

Porém, faz-se necessário a replicação da pesquisa em acréscimo a medidas de balanço nitrogenado, digestibilidade de proteínas, análise de marcadores livremente depurados que não sofram influência de dietas hiperproteicas e análise de tecido renal a nível tubular e marcadores inflamatórios.

Mesmo assim, torna-se relevante ainda verificar e/ou delinear por meio de novos estudos as relações entre variadas intensidades de treinamento resistido e ingestão de proteínas proporcionalmente em doses baixas e altas, tendo como objetivos o alcance de melhores benefícios anabólicos do suplemento sem possíveis prejuízos adicionais à saúde renal, diante dos indícios observados no presente estudo.

9 FINANCIAMENTO / BOLSA

Eu, Alanna Joselle Santiago Silva*, discente responsável pela execução da pesquisa, fui favorecida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, por meio do Programa de Demanda Social (DS) de apoio aos discentes de programas de pós-graduação *stricto sensu*, via Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto – PPGSAD da Universidade Federal do Maranhão.

*Bolsa CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.
Nº de Registro: 02599671302

REFERÊNCIAS

- ABIAD. **Hábitos de consumo de Suplementos Alimentares no Brasil**. Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres. Disponível em:< <http://ilsibrasil.org/wp-content/uploads/sites/9/2017/06/Dra.-Tatiana-Pires-ABIAD-Suplementos-Alimentares-Apresentação-TP-no-ILSI-12-06-2017.pdf> >. 2015.
- ADECHIAN, S.; RÉMOND, D.; GAUDICHON, C.; DARDEVET, D.; MOSONI, L.. The nature of the ingested protein has no effect on lean body mass during energy restriction in overweight rats. **Obesity**, v. 19, n. 6, p. 1137-1144, 2011.
- ALVES, M. A. R. Diagnóstico de doença renal crônica: avaliação de Proteinúria e sedimento urinário. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 26, n. 3, Supl. 1, p. 6-8, 2004.
- ANDERSEN, M. L., D'ALMEIDA, V.; KO, G. M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P. J. F.; Procedimentos experimentais. In: ANDERSEN, M. L., D'ALMEIDA, V.; KO, G. M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P. J. F.. **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. Departamento de Psicobiologia. Escola Paulista de Medicina. Universidade Federal de São Paulo, São Paulo: Cromosete Gráfica e Editora. p. 1-19. 2004.
- APARICIO, V. A.; NEBOT, E.; KAPRAVELOU, G.; SÁNCHEZ, C.; PORRES, J. M.; JURADO, M. L.; ARANDA, P.. El entrenamiento de fuerza reduce la acidosis metabólica y la hipertrofia hepática y renal consecuentes del consumo de una dieta hiperproteica en ratas. **Nutrición Hospitalaria**, v. 26, n. 6, p. 1478-1486, 2011.
- APARICIO, V. A.; NEBOT, E.; TASSI, M.; CAMILETTI-MOIRÓN, D.; SANCHEZ-GONZALEZ, C.; PORRES, J. M.; ARANDA, P.. Whey versus soy protein diets and renal status in rats. **Journal of medicinal food**, v. 17, n. 9, p. 1011-1016, 2014a.
- APARICIO, V. A.; TASSI, M.; NEBOT, E.; CAMILETTI-MOIRÓN, D.; ORTEGA, E.; PORRES, J. M.; ARANDA, P.. High-intensity exercise may compromise renal morphology in rats. **International journal of sports medicine**, v. 35, n. 08, p. 639-644, 2014b.
- ARAÚJO, P. B; PEREIRA, D. S.; TEIXEIRA, M. N.; COELHO, M. C. O. C.; ALENCAR, S. P.. Urinálise como instrumento auxiliar no diagnóstico de enfermidades em pequenos ruminantes. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 3, n. 2, p. 30-38, 2009.
- ATHIRA, S.; MANN, B.; SHARMA, R.; KUMAR, R.. Ameliorative potential of whey protein hydrolysate against paracetamol-induced oxidative stress. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 3, p. 1431-1437, 2013.
- BACURAU, R. F. P.. **Nutrição e suplementação esportiva**. São Paulo: Phorte. p. 73-91. 2009.
- BAREISS, D.; DICKENMANN, M.; BURKHALTER, F. Kidney diseases in elderly patients. **Praxis**, v. 103, n. 25, p. 1503-1508, 2014.
- BAUMGAERTEL, M.; KRAEMER, M.; BERLIT, P. Neurologic complications of acute

and chronic renal disease. **Handbook of clinical neurology**, v. 119, p. 383-393, 2013.

BAZZANO, T.; RESTEL, T. I.; PORFIRIO, L. C.; DE SOUZA, A. S.; SILVA, I. S.. Renal biomarkers of male and female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) undergoing renal ischemia and reperfusion. **Acta cirurgica brasileira**, v. 30, n. 4, p. 277-288, 2015.

BERNSTEIN, A. M.; TREYZON, L.; LI, Z.. Are high-protein, vegetable-based diets safe for kidney function? A review of the literature. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 107, n. 4, p. 644-650, 2007.

BORGES, K. E.; POLIZER, K. A.; SILVÉRIO, M. R.; GIMENES, T. F.; BERMEJO, V. J.. Exames de função renal utilizados na medicina veterinária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 6, n.11, 2008.

BOUNOUS, G.; GERVAIS, F.; AMER, V.; BATIST, G.; GOLD, P. The influence of dietary whey protein on tissue glutathione and the diseases of aging. **Clinical and Investigative Medicine**, v. 12, n. 6, p. 343-349, 1989.

BOUNOUS, G.; PAPERNBURG, R.; KONGSHAVN, P. A.; GOLD, P.; FLEISZER, D.. Dietary whey protein inhibits the development of dimethylhydrazine induced malignancy. **Clinical and Investigate Medicine**, v. 11, n. 3, p. 213-7, 1988.

BRASNUTRI. **Panorama do Setor**. Associação Brasileira dos Fabricantes de Suplementos para Fins Especiais. Disponível em: <http://www.brasnutri.org.br/arquivos/numeros_setor/2017_atualizado.pdf>. 2017.

CAPUTO, L. F. G.; GIRITANA, L. B.; MANSO, P. P. A.. Técnicas histológicas. In: MOLINARO, E.M.; CAPUTO, L.F.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Instituto Oswaldo Cruz. p. 89-188. 2010.

CHAN, A. Y.; CHENG, M. L.; KEIL, L. C.; MYERS, B. D.. Functional response of healthy and diseased glomeruli to a large, protein-rich meal. **Journal of Clinical Investigation**, v. 81, n. 1, p. 245, 1988.

CHEN, W.; HUANG, W.; CHIU, C.; CHANG, Y.; HUANG, C.. Whey protein improves exercise performance and biochemical profiles in trained mice. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 46, n. 8, p. 1517, 2014.

CHESTERTON, L. J.; MCINTYRE, C. W. The assessment of baroreflex sensitivity in patients with chronic kidney disease: implications for vasomotor instability. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 14, n. 6, p. 586-591, 2005.

CONCEA. **Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal**. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), p. 1-221, 2015a.

CONCEA. **Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA**. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), p. 1-54, 2015b.

COSTA, E. L.; ALMEIDA, F. M.; NETTO, F. M.; GONTIJO, J. A. R.. Effect of

intraperitoneally administered hydrolyzed whey protein on blood pressure and renal sodium handling in awake spontaneously hypertensive rats. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 38, n. 12, p. 1817-1824, 2005.

CRIBB, P. J.. U.S. Whey proteins in sports nutrition. Applications Monograph Sports Nutrition. **U.S. Dairy Export Council**, v. 4, p. 1-12, 2005.

DANTAS, J. A.; AMBIEL, C. R.; CUMAN, K. N.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, A.. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 28, n. 2, p. 165-170, 2006.

DE CASTRO, B. B. A.; COLUGNATI, F. A. B.; CENEDEZE, M. A.; SUASSUNA, P. G. A.; PINHEIRO, H. S.. Padronização da avaliação da função renal de ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar do biotério da Universidade Federal de Juiz de Fora. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 36, n. 2, p. 139-149, 2014.

DELANGHE, J. R.; SPEECKAERT, M. M. Creatinine determination according to Jaffe—what does it stand for?. **Nephrology Dialysis Transplantation Plus**, v. 4, n. 2, p. 83-86, 2011.

DIETERLE, F.; PERENTES, E.; CORDIER, A.; ROTH, D. R.; VERDES, P.; GRENET, O.; PANTANO, S.; MOULIN, P.; WAHL, D.; MAHL, A.; END, P.; STAEDTLER, F.; LEGACY, F.; CARL, K.; LAURIE, D.; CHIBOUT, S.; VONDERSHCER, J.; MAURER, G.. Urinary clusterin, cystatin C, β 2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury. **Nature biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 463, 2010.

DOS SANTOS, A. C. A, MARTINS, M. C. C.; PEREIRA, L. A. C.; BARROS, N. S.; CARVALHO, M. L.. Efeitos da Suplementação Alimentar com Whey Protein e Leucina em Ratos Normais. **Journal of Health Sciences**, v. 18, n. 2, p. 121-128, 2016.

DOS SANTOS, N. S. J.; DRAIBE, S. A.; KAMIMURA, M. A.; CUPPARI, L.. Serum albumin as nutritional marker of hemodialysis patients. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 339-349, 2004.

DURAN, A. C. F. L.; LATORRE, M. R. D. O; FLORINDO, A. A.; JAIME, P. C. Correlação entre consumo alimentar e nível de atividade física habitual de praticantes de exercícios físicos em academia. **Revista Brasileira Ciência e Movimento**, v. 12, n. 3, p. 15-19, 2004.

DURHAM, R. J.; SLEIGH, R. W.; HOURIGAN, J. A.. Pharmaceutical lactose: a new whey with no waste. **Australian journal of dairy technology**, v. 59, n. 2, p. 138, 2004.

DUSSE, L. M. S. A.; FARIA, V. H. D.; COELHO, L. A.; RIOS, D. R. A.; SILVA, I. D. F. O.. Influência da Massa Muscular e da Atividade Física Nos Níveis Plasmáticos de Creatinina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 47, n. 4, p. 174-177, 2015.

EDDY, A. A. Progression in chronic kidney disease. **Advances in chronic kidney disease**, v. 12, n. 4, p. 353-365, 2005.

FITZGERALD, R. J.; MURRAY, B. A. Bioactive peptides and lactic fermentations. **International Journal of Dairy Technology**, v. 59, n. 2, p. 118-125, 2006.

FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements**. Institute of medicine. Washington, DC: The National Academies Press. 2006.

FRANK, H.; GRAF, J.; AMANN-GASSNER, U.; BRATKE, R.; DANIEL, H.; HEEMANN, U.; HAUNER, H.. Effect of short-term high-protein compared with normal protein diets on renal hemodynamics and associated variables in healthy Young men. **The American journal of clinical nutrition**, v. 90, n. 6, p. 1509-1516, 2009.

FRANZEN, J. M.; VAZ, J. G.; ZANCANARO, V.; MARIANO, R.; BITENCOURT, R. M.. Baixa dose de Whey Protein reduz glicose, triglicérides e controla o peso corporal em ratos Wistar. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 10, n. 57, p. 133-144, 2016.

FRID, A. H.; NILSSON, M.; HOLST, J. J.; BJÖRCK, I. M. E.. Effect of whey on blood glucose and insulin responses to composite breakfast and lunch meals in type 2 diabetic subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 1, p. 69-75, 2005.

GABRIEL, I. C.; NISHIDA, S. K.; KIRSZTAJN, G. M.. Serum cystatin C: a practical alternative for renal function evaluation? **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 33, n. 2, p. 261-267, 2011.

GUALANO, B.; UGRINOWITSCH, C.; NOVAES, R. B.; ARTIOLI, G. G.; SHIMIZU, M. H.; SEGURO, A. C.; HARRIS, R. C.; LANCHA JUNIOR, A. H. Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **European journal of applied physiology**, v. 103, n. 1, p. 33-40, 2008b.

GUALANO, B.; UGRINOWITSCH, C.; SEGURO, A. C.; LANCHA JUNIOR, A. H.. A suplementação de creatina prejudica a função renal? **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, n. 1, p. 68-73, 2008a.

HA, E.; ZEMEL, M. B.. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people (review). **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 14, n. 5, p. 251-258, 2003.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; DE PAULA, H.. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 479-88, 2006.

HARAGUCHI, F. K.; PEDROSA, M. L.; DE PAULA, H.; SANTOS, R. C.; SILVA, M. E.. Influência das proteínas do soro sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea de ratos hipercolesterolêmicos. **Revisista de Nutrição**, v. 22, n. 4, p. 517-525, 2009.

HEGAZY, R.; SALAMA, A.; MANSOUR, D.; HASSAN, A.. Renoprotective effect of

lactoferrin against chromium-induced acute kidney injury in rats: involvement of IL-18 and IGF-1 inhibition. **PloS one**, v. 11, n. 3, p. e0151486, 2016.

HERGET-ROSENTHAL, S.; BÖKENKAMP, A.; HOFMANN, W.. How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations? **Clinical biochemistry**, v. 40, n. 3-4, p. 153-161, 2007.

HEWITT, S. M.; DEAR, J.; STAR, R. A. Discovery of protein biomarkers for renal diseases. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, n. 7, p. 1677-1689, 2004.

HORNBERGER, T.A.; FARRAR, R.P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal Applied Physiology**, v. 29, n. 1. p. 16-31, 2004.

HUTH, P. J.; DIRIENZO, D. B.; MILLER, G. D. Major scientific advances with dairy foods in nutrition and health. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 4, p. 1207-1221, 2006.

JAFFÉ, M.. Über Den Niederschlag, Welchen Pikrinsäure In Normalen Harn Erzeugt Und Über Eine Neue Reaction Des Kreatinins. **Zeitschrift für physiologische Chemie**, v. 10, p. 391–400, 1886.

JURASCHEK, S. P.; APPEL, L. J.; ANDERSON, C. A.; MILLER, E. R.. Effect of a high-protein diet on kidney function in healthy adults: results from the OmniHeart trial. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 61, n. 4, p. 547-554, 2013.

KANG, D. H.; JOHNSON, R. J.. **Hyperuricemia, Gout, and the Kidney**. In: SCHRIER, R. W.. Diseases of the Kidney & Urinary Tract. 8^aed. Denver: Lippincott Williams & Wilkins. p. 1987-96. 2007.

KREIDER, R. B.; KALMAN, D. S.; ANTONIO, J.; ZIEGENFUSS, T. N.; WILDMAN, R.; COLLINS, R.; CANDOW, D. G.; KLEINER, S. M.; ALMADA, A. L.; LOPEZ, H. L.. International Society of Sports Nutrition position stand: safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 18, 2017.

KRISSANSEN, G. W. Emerging health properties of *whey proteins* and their clinical implications. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 713S-723S, 2007.

LANIS, A. B.; FONSECA, L. A.; ROESLER, T.; ALVES, A.; LOPES, B.. Avaliação laboratorial das doenças renais em pequenos animais. **Pubvet**, v. 2, n. 28, Ed. 39, Art. 29, 2008.

LAYMAN, D. K. The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 1, p. 261S-267S, 2003a.

LAYMAN, D. K.; BAUM, J. I. Dietary protein impact on glycemic control during weight loss. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 4, p. 968S-973S, 2004.

LAYMAN, D. K.; SHIUE, H.; ERICKSON, D. J.; BAUM, J.. Increased dietary protein modifies glucose and insulin homeostasis in adult women during weight loss. *The Journal of nutrition*, v. 133, n. 2, p. 405-410, 2003b.

LEARY, S.; UNDERWOOD, W.; ANTHONY, R.; CARTNER, S.; COREY, D.; GRANDIN, T.; GREENACRE, C.; GWALTNEY-BRANT, S.; MCCRACKIN, M.A.; MEYER, R.; MILLER, D.; SHEARER, J.; YANONG, R.. A. **VMA Guidelines for the Euthanasia of Animals**. Schaumburg, IL: American Veterinary Medical Association. p. 1-102. 2013 Edition.

LEITE, R. D.; DURIGAN, R. C. M.; LINO, A. D. S.; CAMPOS, M. V. S.; SOUZA, M. G. S.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S.; BOUSKELA, E.; KRAEMER-AGUIAR, L. G.. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. *Metabolism-Clinical and Experimental*, v. 62, n. 10, p. 1477-1484, 2013.

LEMON, P. W. R.. Effects of exercise on dietary protein requirements. *International Journal Sports & Nutrition*, v. 8, n. 4, p. 426-447, 1998.

LERCO, M. M.; SPADELLA, C. T.; MACHADO, J. L. M.; SCHELLINI, S. A.; PADOVANI, C. R.. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 8, n. 2, 2003.

LIN, C.; HUANG, W. C.; CHEN, W. C.; KAN, N. W.; WEI, L.; CHIU, Y. S.; HUANG, C. C.. Effect of whole-body vibration training on body composition, exercise performance and biochemical responses in middle-aged mice. *Metabolism*, v. 64, n. 9, p. 1146-1156, 2015.

LOLLO, P. C. B.; SILVA, L. B. C.; BATISTA, T. M.; MORATO, P. N.; MOURA, C. S.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; CARNEIRO, E. M.; AMAYA-FARFAN, J.. 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.

MAESTÁ, N.; CYRINO, E. S.; ANGELELI, Y. O.; BURINI, R. C.. Efeito da oferta dietética de proteína sobre o ganho muscular, balanço nitrogenado e cinética da ¹⁵N-glicina de atletas em treinamento de musculação. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v. 14, n. 3, p. 215-220, 2008.

MORSCH, C. M. F.; VERONESE, F. J. V.. Doença renal crônica: definição e complicações. *Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre*, v. 31, n. 1, p. 114-115, 2011.

MUNDIM, A. V.. **Morfologia renal e interpretação do exame de urina**. Uberlândia, 2010.

NEBOT, E.; ERBEN, R. G.; PORRES, J. M.; FEMIA, P.; CAMILETTI-MOIRÓN, D.; LÓPEZ-JURADO, M.; APARICIO, V.A.. Effects of the amount and source of dietary protein on bone status in rats. *Food & function*, v. 5, n. 4, p. 716-723, 2014.

NEVES, S. M. P.; ONG, F. M. P.; RODRIGUES, L. D.; DOS SANTOS, R. A.; FONTES, R. S.; SANTANA, R. O.. **Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. São Paulo: FCF-IQ/USP. 2013.

NUNES, R.; SILVA, P.; ALVES, J.; GIUSEPPE, S.; PETRY, M.; RHODEN, C.; DAL LAGO, P.; SCHNEIDER, C. D.. Effects of resistance training associated with whey protein supplementation on liver and kidney biomarkers in rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 11, p. 1166-1169, 2013.

PACHECO, M. T. B.; BIGHETTI, E.; ANTONIO, M.; DE CARVALHO, J. E.; ROSANELI, C. F.; SGARBIERI, V. C.. Efeito de um hidrolisado de proteínas de soro de leite e de seus peptídeos na proteção de lesões ulcerativas da mucosa gástrica de ratos. **Revista de nutrição**, v. 19, n. 1, p. 47-55, 2006.

PAL, S.; RADAVELLI-BAGATINI, S.. The effects of whey protein on cardiometabolic risk factors. **Obesity Reviews**, v. 14, n. 4, p.324-343, 2012.

PERRONE, R. D.; MADIAS, N. E.; LEVEY, A. S. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. **Clinical chemistry**, v. 38, n. 10, p. 1933-1953, 1992.

PIVA, J. P.; GARCIA, P. C. R.; MARTHA, V. F.. Distúrbios do equilíbrio ácido-básico. **Jornal de Pediatria**, v. 75, supl. 2, p. s234-s243, 1999.

POPPI, F. A.; COSTA, M. R.; DE RENSIS, C. M. V. B.. Soro de leite e suas proteínas: composição e atividade funcional. **Journal of Health Sciences**, v. 12, n. 2, 2015.

PRATES, A. B.; DO AMARAL, B.; VACARO, M. Z.; GROSS, J. L.; CAMARGO, J. L.; SILVEIRO, S. P.. Avaliação da filtração glomerular através da medida da cistatina C sérica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 29, n. 1, p. 48-55, 2007.

QURESHI, A. R.; ALVESTRAND, DANIELSSON, A.; DIVINO-FILHO, J. C.; GUTIERREZ, A.; LINDHOLM, B.; BERGSTRÖM, J.. Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: a cross-sectional study. **Kidney international**, v. 53, n. 3, p. 773-782, 1998.

REINE, N. J.; LANGSTON, C. E. Urinalysis interpretation: how to squeeze out the maximum information from small sample. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 20, p. 2-10, 2005.

ROMÃO JUNIOR, J. E. Doença renal crônica: definição, epidemiologia e classificação. **Jornal brasileiro de nefrologia**, v. 26, n. 3, supl. 1, p. 1-3, 2004.

RUIZ-ORTEGA, M.; LORENZO, O.; SUZUKI, Y.; RUPÉREZ, M.; EGIDO, J.. Proinflammatory actions of angiotensins. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 10, n. 3, p. 321-329, 2001.

SANTESSO, N.; AKL, E. A.; BIANCHI, M.; MENTE, A.; MUSTAFA, R.; HEELS-ANSDELL, D.; SCHÜNEMANN, H. J.. Effects of higher-versus lower-protein diets on

health outcomes: a systematic review and meta-analysis. **European journal of clinical nutrition**, v. 66, n. 7, p. 780-788, 2012.

SANTOS, M. R. V.; SOUZA, V. H.; MENEZES, I. A. C.; BITENCURT, J. L.; REZENDE-NETO, J. M.; BARRETO, A. S.; CUNHA, F. A.; MARÇAL, R. M.; TEIXEIRA-SILVA, F.; QUÍNTANS-JÚNIOR, L. J.; BARBOSA, A. P. O.. Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) produzidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 6, n. 10, 2010.

SAYED, L. H.; BADR, G.; OMAR, H. M.; EL-RAHIM, A. M. A.; MAHMOUD, M. H.. Camel whey protein improves oxidative stress and histopathological alterations in lymphoid organs through Bcl-XL/Bax expression in a streptozotocin-induced type 1 diabetic mouse model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 88, p. 542-552, 2017.

SBCAL/COBEA. **Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório**, 2012. Disponível em: <<http://www.cobea.org.br>>.

SESSO, R. C.; LOPES, A. A.; THOMÉ, F. S.; LUGON, J. R.; MARTINS, C. T.. Brazilian Chronic Dialysis Survey 2016. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 39, n. 3, p. 261-266, 2017.

SGARBIERI, V. C.. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

SGARBIERI, V. C.. Revisão: Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 1, p. 43-56, 2005.

SIMON, A. H.; LIMA, P. R.; ALMERINDA, M.; ALVES, V. F.; BOTTINI, P. V.; DE FARIA, J. B.. Renal haemodynamic responses to a chicken or beef meal in normal individuals. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 13, n. 9, p. 2261-2264, 1998.

SKOV, A. R.; TOUBRO, S.; BÜLOW, J.; KRABBE, K.; PARVING, H. H.; ASTRUP, P.. Changes in renal function during weight loss induced by high vs low-protein low-fat diets in overweight subjects. **International Journal Obesity Relationship Metabolism and Disorders**, v. 23, n. 11, p. 1170-1177, 1999.

SMITHERS, G. W.. Whey and *whey proteins*—from ‘gutter-to-gold’. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 695-704, 2008.

SBN. **Biomarcadores na Nefrologia**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Nefrologia. 144p, 2013.

SOLORZANO, G. T. M.; SILVA, M. V. M.; MOREIRA, S. R.; NISHIDA, S. K.; KIRSZTAJN, G. M.. Relação proteína/Creatinina na urina versus Proteinúria de 24 horas na avaliação de nefrite lúpica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 34, n. 1, p. 64-67, 2012.

TANG, J. E.; PHILLIPS, S. M. Maximizing muscle protein anabolism: the role of protein quality. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 12, n. 1, p. 66-71, 2009.

TIPTON, K. D.. Efficacy and consequences of very-high-protein diets for athletes and exercisers. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 70, n. 2, p. 205-214, 2011.

TOGASHI, Y.; MIYAMOTO, Y.. Urinary cystatin C as a biomarker for diabetic nephropathy and its immunohistochemical localization in kidney in Zucker diabetic fatty (ZDF) rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 65, n. 5, p. 615-622, 2013.

VIBERTI, G.; BOGNETTI, E.; WISEMAN, M. J.; DODDS, R.; GROSS, J. L.; KEEN, H.. Effect of protein-restricted diet on renal response to a meat meal in humans. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 253, n. 3, p. F388-F393, 1987.

WALKER, D. K.; DICKINSON, J. M.; TIMMERMAN, M. J. D.; REIDY, P. T.; FRY, C. S.; GUNDERMANN, D. M.; RASMUSSEN, B. B.. Exercise, Amino Acids, and Aging in the Control of Human Muscle Protein Synthesis. **Medicine & Science In Sports & Exercise**, v. 43, n. 12, p.2249-2258, 2011.

WANG, X. H.; MITCH, W. E. Mechanisms of muscle wasting in chronic kidney disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 10, n. 9, p. 504-516, 2014.

WILLIAMS, M.. Dietary supplements and sports performance: amino acids. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 63, 2005.

WU, X. Urinalysis: a review of methods and procedures. **Critical Care Nursing Clinics of North America**, v. 22, p. 121-128, 2010.

ANEXOS

ANEXO 1 – Certificado de Aprovação da Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA-UFMA).



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS-CEUA
CIAEP:01.0341.2014

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Efeitos da suplementação de whey protein e do treinamento resistido de doze semanas sobre a função renal de ratos Wistar**” registrada com o nº **23115.01804/2017-91**, sob a responsabilidade de **Francisco Navarro**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão.

FINALIDADE	()Ensino (x) Pesquisa ()Extensão
Vigência da autorização	01/04/2017 à 01/08/2018
Espécie/linhagem/raça	Ratos/Wistar/
Nº de animais	50 animais
Peso/Idade	200 a 250g – 60 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central UFMA

Prof. Dra. Lucilene Amorim Silva
 Presidente da Comissão de Ética no uso de animais-CEUA
 UFMA

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Termo de anuência do Biotério Setorial Centro de Pesquisa de Pós-Graduação das Ciências Biológicas e da Saúde

São Luís, _____ de _____ de 2017.

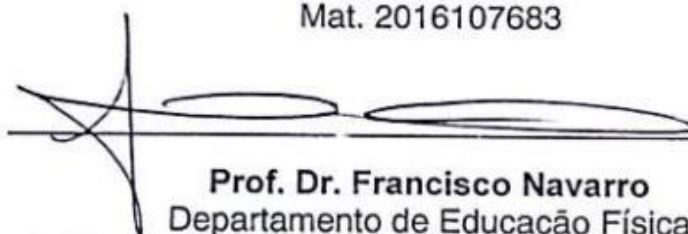
O Biotério vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto e da Criança – UFMA, está de acordo com a execução do projeto de mestrado de Alanna Joselle Santiago Silva (2016107683): **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE WHEY PROTEIN E DO TREINAMENTO RESISTIDO DE DOZE SEMANAS SOBRE A FUNÇÃO RENAL DE RATOS WISTAR**, sob orientação do Prof. Dr. Francisco Navarro, docente do da Universidade federal do Maranhão (UFMA).

O Biotério assume o compromisso em disponibilizar a estrutura física necessária para a coleta de dados durante a realização da pesquisa.



Alanna Joselle Santiago Silva

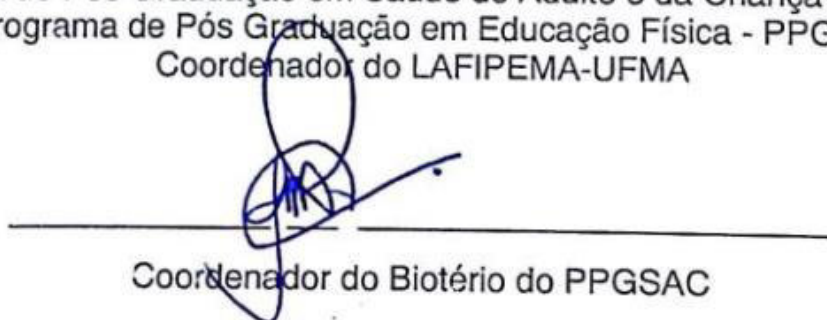
Mestranda do Programa de Pós Graduação em Saúde do Adulto e da Criança
(PPGSAC)
Mat. 2016107683



Prof. Dr. Francisco Navarro

Departamento de Educação Física
Programa de Pós Graduação em Saúde do Adulto e da Criança - PPGSAC
Programa de Pós Graduação em Educação Física - PPGEF
Coordenador do LAFIPEMA-UFMA

Prof. Dr. Francisco Navarro
Chefe do Departamento de
Educação Física
Mat. SIAPE nº 1740634



Coordenador do Biotério do PPGSAC

APÊNDICE 2 – Termo de anuência do Laboratório de Bioanálises do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto e da Criança (PPGSAC).

São Luís, _____ de _____ de 2017.

O Laboratório de Bioanálises do PPGSAC, está de acordo com a execução do projeto de mestrado de Alanna Joselle Santiago Silva (2016107683): **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE WHEY PROTEIN E DO TREINAMENTO RESISTIDO DE DOZE SEMANAS SOBRE A FUNÇÃO RENAL DE RATOS WISTAR**, sob orientação do Prof. Dr. Francisco Navarro, docente do da Universidade federal do Maranhão (UFMA).

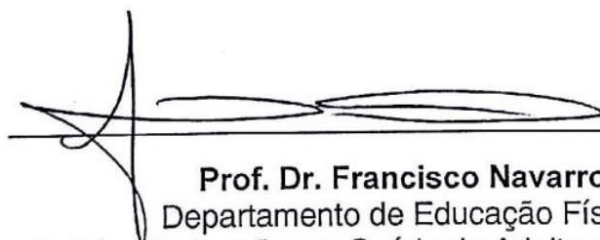
Assumimos o compromisso em disponibilizar os equipamentos necessários para a coleta de dados durante a realização desta pesquisa, mediante a compra de materiais de custeio e com horários previamente agendados para o uso.



Alanna Joselle Santiago Silva

Mestranda do Programa de Pós Graduação em Saúde do Adulto e da Criança (PPGSAC)

Mat. 2016107683



Prof. Dr. Francisco Navarro

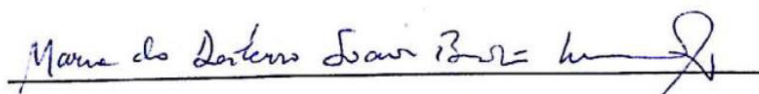
Departamento de Educação Física

Programa de Pós Graduação em Saúde do Adulto e da Criança - PPGSAC

Programa de Pós Graduação em Educação Física - PPGEF

Coordenador do LAFIPEMA-UFMA

Prof. Dr. Francisco Navarro
Chefe do Departamento de
Educação Física
Mat. SIAPE nº 1740834



Coordenador do Laboratório de Bioanálises do PPGSAC

Prof.ª Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação
em Saúde do Adulto e da Criança

SIAPE - Matrícula - 407201