

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

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES
DOSES DE WHEY PROTEINS ASSOCIADAS
AO TREINAMENTO RESISTIDO POR DOZE SEMANAS
SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA DE MTOR, MURF-1
E MAFBX EM RATOS WISTAR MACHOS**

Raphael Furtado Marques

São Luís
2018

Raphael Furtado Marques

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES
DOSES DE WHEY PROTEÍNS ASSOCIADAS
AO TREINAMENTO RESISTIDO POR DOZE SEMANAS
SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA DE MTOR, MURF-1
E MAFBX EM RATOS WISTAR MACHOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal do Maranhão, para defesa da obtenção do Título de Mestre em Educação Física.

Área de Concentração: Biodinâmica do Movimento Humano.

Linha de Pesquisa: Atividade Física relacionada a Saúde Humana.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Navarro.

Coordenador: Prof. Dr. Christiano Eduardo Veneroso.

São Luís
2018

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

Furtado Marques, Raphael.

Efeito da suplementação de diferentes doses de Whey Proteins associadas ao Treinamento Resistido por doze semanas sobre a Expressão gênica de MTOR, MURF-1 e MAFBX em ratos Wistar machos / Raphael Furtado Marques. - 2018. 119 p.

Coorientador(a): Antônio Coppi Navarro.

Orientador(a): Francisco Navarro.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Educação Física/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luis - MA, 2018.

1. MAFBX. 2. MTOR. 3. MURF-1. 4. Treinamento Resistido. 5. Whey Proteins. I. Coppi Navarro, Antônio. II. Navarro, Francisco. III. Título.

RAPHAEL FURTADO MARQUES

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES
DOSES DE WHEY PROTEINS ASSOCIADAS
AO TREINAMENTO RESISTIDO POR DOZE SEMANAS
SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA DE MTOR, MURF-1
E MAFBX EM RATOS WISTAR MACHOS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Educação Física da Universidade
Federal do Maranhão, para defesa
da obtenção do Título de Mestre em
Educação Física.

A Banca Examinadora da defesa da Dissertação 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)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Almir Vieira Dibai Filho
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Christiano Eduardo Veneroso
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Antonio Coppi Navarro
Universidade Federal do Maranhão

São Luís
2018

DEDICATÓRIA

Dedico mais esta conquista à minha mãe, Maria de Ribamar Furtado Marques, meu pai, Manoel de Jesus Nascimento Marques e minha irmã Isabella Furtado Marques, minha família, por sempre apoiar em todas as minhas decisões, especialmente nesses últimos 12 anos longe de casa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pelo dom da minha vida e da vida de todas as pessoas que sempre estão ao meu lado.

Agradeço a todos os meus familiares que me ajudaram e ajudam nesses últimos anos de caminhada.

Agradecimento especial à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de auxílio, que promoveu ajuda financeira durante esse período.

Agradeço muito ao meu orientador, professor Dr. Francisco Navarro, pela oportunidade, pelo aprendizado que me proporciona todos os dias, pela convivência sempre muito agradável e sempre inspiradora de continuar nessa profissão encantadora que é a nossa. Além dele, agradecimento muito especial ao professor Dr. Antônio Coppi Navarro, que no decorrer desses dois anos teve muita dedicação, empenho e muita paciência na construção não apenas dessa dissertação, mas na minha construção como profissional. Aos dois, meu muito obrigado, e sem dúvida são minhas referências de profissionais e orientadores.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Educação Física da Universidade Federal do Maranhão, por ter a honra de fazer parte dessa história logo no início, na sua primeira turma. Agradeço ao Professor Dr. Cristiano Eduardo Veneroso pela sua dedicação e trabalho dado como coordenador deste Programa de Pós Graduação, além de todos os professores que participaram desse processo nos últimos dois anos: Professores Dr. Emerson Silami Garcia, Dr. Mário Norberto Sevilio de Oliveira Junior, Dr. Cristiano Teixeira Mostarda, Dra. Marcela Rodrigues, Dr. Christian Emmanuel Torres Cabido, Dr. Nelo Eidy Zanchi, Dr. Cristiano Bertoldo Urtado e todos os outros docentes do programa que sempre estiveram de prontidão e trabalhando duro para o crescimento desse programa.

Agradeço às professoras Dra. Melaine Mont'Alverne Lawall Silva e Dra. Flavia Castello Branco Vidal, que gentilmente abriram as portas de seus laboratórios para que fossem realizadas as nossas análises, e fazer isso com

extrema dedicação e paciência em nos ensinar todos os procedimentos necessários.

Agradeço ao meu amigo Herikson Araújo Costa, por sempre me incentivar e não deixar eu desanimar em entrar no mestrado, sem dúvida você contribuiu com essa conquista.

Agradeço aos meus amigos de turma, Paulo Vitor Albuquerque Santana, Poliane Dutra Alvares, Leandro Moraes Pinto, Fernanda Lima Soares, André Fernandes dos Santos, Frank Ronyelle de Sousa Lima, Levy Silva Rezende, Laíssa Lima da Costa e Hamilton Moura Ferro Junior. Esses anos foram de muito aprendizado, e ao lado de vocês foi mais fácil chegar até o final.

Agradecimento muito especial a todos os membros do Laboratório de Avaliação e Prescrição do Exercício do Maranhão – LAFIPEMA, essa dissertação representa o trabalho duro e dedicação de todos vocês e sem dúvida nós criamos uma segunda família durante esse período, que vai conviver ainda por muitos e muitos anos. Em especial agradeço aos meus amigos Marcos Roberto Campos de Macedo, Alanna Joselle Santiago Silva, Júlio Cesar da Costa Machado, Milena de Oliveira Silva, Anne Karynne da Silva Barbosa, por serem os primeiros a iniciar esse trabalho junto comigo e sempre se dedicar ao máximo para o sucesso dele.

Agradeço aos meus grandes amigos André Ótony Borges dos Santos, Júlia Gomes Lúcio de Araújo, Caio Eduardo Falcão Matos, Luis Guilherme Holanda, Thiago Oliveira Chaves, Sonadson Diego de Paula Nery, Hugo Fernando Rodrigues Castro, vocês são mais que especiais, e nesses últimos dois anos não mediram esforços em me apoiar e ficaram e ficam felizes com todas as minhas conquistas e entenderam a ausência nesses últimos dois anos.

Agradeço em especial ao meu amor, minha namorada Carine Dávalos Franco de Araújo, pela companheira que é, e que durante esse período não mediu forças para me apoiar em tudo.

RESUMO

Objetivo: Verificar o efeito da suplementação de 2, 4 e 6g/kg/dia doses de *Whey proteins* associadas ao Treinamento resistido de 12 semanas na expressão gênica em vias de síntese e degradação proteica do músculo esquelético de ratos machos Wistar. **Materiais e Métodos:** Estudo realizado com 60 ratos machos da linhagem Wistar com idade inicial de 60 dias e massa corporal de 250g a 350g, distribuídos aleatoriamente em oito grupos, sendo um controle e três de intervenção sedentários, identificados pelo valor da dosagem do suplemento WP (2, 4 e 6g/kg/dia) e um controle treinamento resistido com mais três grupos treinados e com whey proteins nas doses (2, 4 e 6g/kg/dia). O protocolo teve duração de 12 semanas com suplementação diária e treinamento resistido três vezes por semana. Foi avaliada a expressão gênica de MTOR, MURF-1 e MAFBX na porção branca do músculo gastrocnêmio através do método Polimerase chain Reaction real time (PCR-RT), a força muscular a cada duas semanas e a massa do músculo gastrocnêmio e média da área da célula muscular. **Resultados:** A expressão gênica de MTOR mRNA no músculo gastrocnêmio no grupo TC foi maior do que os grupos W2, W4 e W6 mas não apresentou diferença estatística significativa entre grupos C, TW2, TW4 e TW6. A expressão gênica de MURF-1 mRNA foi menor em todos os grupos de tratamento, comparados ao grupo controle, e não foi diferente na comparação entre as doses de whey proteins e/ou treinamento resistido. A expressão gênica de MAFBX mRNA em todos os grupos foi menor quando comparados ao grupo controle sedentário. Além disso, a expressão gênica de MAFBX mRNA no grupo TW6, foi maior do que os grupos W2, W4, W6, TC, TW2 e TW4. A força muscular aumentou em todos os grupos treinados, porém a whey proteins teve efeito potencializador nesse resultado. Além disso, a massa muscular relativa foi maior no grupo treinado e suplementado com 6g/kg/dia. **Discussão:** A suplementação com whey proteins teve efeito positivo sobre a diminuição da expressão de proteínas relacionadas à degradação proteica, o que pode ocasionar em balanço positivo da síntese proteica, e o treinamento resistido proporcionou maior ativação da via de síntese. A menor expressão desses marcadores de degradação proteica é um importante indicativo para um balanço positivo da síntese proteica em relação à degradação proteica, haja vista que a própria diminuição das vias de degradação pode provocar um aumento na hipertrofia muscular. Apesar disso, essa condição provocou aumento da massa da relativa do gastrocnêmio no grupo TW6 e a área da célula muscular não teve diferença significativa estatística entre os grupos. **Conclusão:** Whey proteins com doses de 2, 4 ou 6 g/kg/dia em ratos sedentários não provocou aumento na expressão de MTOR mRNA mas provocou diminuição na expressão de MURF-1 mRNA e MAFBX mRNA. O TR aumentou a expressão de MTOR mRNA, porém a suplementação de whey proteins não potencializou esse efeito. A dose de 6g/kg/dia de whey proteins provocou maior aumento na massa relativa do músculo gastrocnêmio em ratos que realizaram treinamento resistido. Ademais, whey proteins teve efeito potencializador no aumento da força dos animais que realizaram treinamento resistido.

Palavras-chave: *Whey Proteins*, Treinamento Resistido, MTOR, MURF-1, MAFBX.

ABSTRACT

Objective: Verify the effect of supplementation of 2, 4 and 6g/kg/day doses of Whey proteins associated with the 12 week resistance training in gene expression in the path of synthesis and protein degradation of the skeletal muscle of male Wistar rats. **Materials and Methods:** A study of 60 male Wistar rats with initial age of 60 days and body mass of 250g to 350g, randomly distributed in eight groups, one being a control and three interventional sedentary, identified by the dosage value of the supplement WP (2, 4 and 6g/kg/day), a resistance training control and three more trained groups and with whey proteins at doses (2, 4 and 6g/kg/day). The protocol lasted 12 weeks with daily supplementation and resistance training three times a week. The gene expressions of MTOR, MURF-1 and MAFBX in the white portion of the gastrocnemius muscle through the Polimerase Chain Reaction Real Time method (PCR-RT), muscle strength every two weeks and gastrocnemius muscle mass and mean area of the muscle cell were evaluated. **Results:** Gene expression of MTOR mRNA in the gastrocnemius muscle in the TC group was greater than the W2, W4 and W6 groups but did not present a significant statistical difference between groups C, TW2, TW4 and TW6. Gene expression of MURF-1 mRNA was lower in all treatment groups compared to the control group and was not different in the comparison between doses of whey proteins and/or resistance training. The gene expression of MAFBX mRNA in all groups was lower when compared to the sedentary control group. In addition, the gene expression of MAFBX mRNA in the TW6 group was greater than the W2, W4, W6, TC, TW2 and TW4 groups. Muscle strength increased in all trained groups, but whey proteins had a potentiating effect on this result. In addition, relative muscle mass was higher in the trained group and supplemented with 6g/kg/day. **Discussion:** Whey protein supplementation had a positive effect on the decrease in the expression of proteins related to protein degradation, which could lead to a positive balance of protein synthesis, and resistance training provided greater activation of the synthesis pathway. The lower expression of these markers of protein degradation is an important indication for a positive balance of protein synthesis in relation to protein degradation, since the reduction of the degradation pathways itself may lead to an increase in muscle hypertrophy. Nevertheless, this condition caused an increase in the relative mass of the gastrocnemius in the TW6 group and the muscle cell area did not have significant statistical difference between the groups. **Conclusion:** Whey proteins at doses of 2, 4 or 6 g / kg / day in sedentary rats did not provoke an increase in MTOR mRNA expression but caused a decrease in the expression of MURF-1 mRNA and MAFBX mRNA. TR increased MTOR mRNA expression, but whey protein supplementation did not potentiate this effect. The dose of 6g / kg / day of whey proteins caused a greater increase in the relative mass of the gastrocnemius muscle in rats that underwent resistance training. In addition, whey proteins had a potentiating effect on the strength of the animals that underwent resistance training.

Key words: *Whey Proteins*, Resistance Training, MTOR, MUFR-1, MAFBX.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| Itens | Título da figura | Página |
|-----------|--|--------|
| Figura 1 | Mammalian Target of Rapamycin (MTOR) | 15 |
| Figura 2 | Síntese proteica do músculo esquelético e a proteólise | 16 |
| Figura 3 | Sistema ubiquina-proteassomo | 18 |
| Figura 4 | Muscle Ring Finger (MURF-1) | 18 |
| Figura 5 | Muscle Atrophy F-Box (MAFBX) | 19 |
| Figura 6 | Representação da AKT mediando via da MTOR e FOXO | 20 |
| Figura 7 | Composição de Proteína do leite. | 21 |
| Figura 8 | Ativação do complexo MTORC-1 por aminoácidos | 23 |
| Figura 9 | Fluxograma da revisão sistemática | 60 |
| Figura 10 | Organização temporal do protocolo experimental | 60 |
| Figura 11 | Gavagem em Rato | 63 |
| Figura 12 | Escada para realização de treinamento resistido | 66 |
| Figura 13 | Mensuração da área celular do músculo gastrocnêmio | 73 |
| Figura 14 | Consumo de ração semanal em gramas | 75 |
| Figura 15 | Consumo de proteína da Ração (g) | 78 |
| Figura 16 | Consumo de Whey Proteins (g) | 80 |
| Figura 17 | Proteína Total (g/kg) | 80 |
| Figura 18 | Controle semanal da massa corporal | 82 |
| Figura 19 | Teste de Peso máximo carregado (g) | 87 |
| Figura 20 | Expressão gênica de MTOR mRNA | 88 |
| Figura 21 | Expressão gênica de MURF-1 mRNA | 89 |
| Figura 22 | Expressão gênica de MAFBX mRNA | 90 |
| Figura 23 | Massa do músculo gastrocnêmio (g) | 91 |
| Figura 24 | Média do diâmetro das células do gastrocnêmio | 92 |
| Figura 25 | Média do diâmetro das células do músculo gastrocnêmio | 93 |

LISTA DE QUADROS

| Itens | Título do quadro | Página |
|----------|---|--------|
| Quadro 1 | Composição Nutricional da Ração para Animais de Laboratório Nuvilab CR-1. | 62 |
| Quadro 2 | Composição Nutricional da Proteína do Soro do Leite H.I Whey Protein | 64 |
| Quadro 3 | Aminograma da Proteína do Soro do Leite H.I Whey Protein | 65 |
| Quadro 4 | Consumo de ração semanal em gramas | 111 |
| Quadro 5 | Consumo de Proteína da ração absoluto (g), consumo de whey proteins absoluto (g) e proteína total relativo (g/kg) | 112 |
| Quadro 6 | Massa corporal em gramas dos grupos durante as semanas | 115 |
| Quadro 7 | Teste de Peso máximo carregado em gramas | 117 |
| Quadro 8 | Massa do músculo gastrocnêmio absoluto (g) e relativo à massa corporal (mg/g) e percentual à massa corporal | 119 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1 | MÚSCULO ESQUELÉTICO | 15 |
| 1.2 | VIA DE SÍNTESE DO MÚSCULO ESQUELÉTICO | 16 |
| 1.3 | VIA DE DEGRADAÇÃO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO | 18 |
| 1.4 | TREINAMENTO RESISTIDO E VIAS DE SÍNTESE E DEGRADAÇÃO | 20 |
| 1.5 | SUPLEMENTAÇÃO DE WHEY PROTEINS | 22 |
| 1.6 | RECOMENDAÇÕES DO CONSUMO DIÁRIO DE PROTEÍNA | 24 |
| 2 | JUSTIFICATIVA | 26 |
| 3 | REVISÃO DE LITERATURA | 27 |
| 3.1 | EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO E/OU WHEY PROTEINS NA EXPRESSÃO GÊNICA | 27 |
| 3.1.1 | Exercício resistido com aparato de agachamento | 27 |
| 3.1.2 | Exercício resistido em escada | 28 |
| 3.1.3 | Exercício resistido por estímulo elétrico | 30 |
| 3.1.4 | Exercícios combinados | 32 |
| 3.2 | EXERCÍCIO FÍSICO CRÔNICO E/OU WHEY PROTEINS NA EXPRESSÃO GÊNICA | 34 |
| 3.2.1 | Treinamento resistido em escada | 34 |
| 3.2.2 | Treinamento resistido por estímulo elétrico | 42 |
| 3.2.3 | Treinamento resistido na água | 44 |

| | | |
|----------|---------------------------------------|-----------|
| 3.2.4 | Treinamento resistido em esteira | 46 |
| 3.2.5 | Treinamento aeróbio na água | 46 |
| 3.2.6 | Treinamento aeróbio em esteira | 49 |
| 3.2.7 | Treinamentos combinados | 50 |
| 4 | OBJETIVOS | 59 |
| 4.1 | GERAL | 58 |
| 4.2 | ESPECÍFICOS | 58 |
| 5 | HIPÓTESES | 60 |
| 5.1 | HIPÓTESE 1 | 60 |
| 5.2 | HIPÓTESE NULA | 60 |
| 6 | MATERIAIS E MÉTODOS | 61 |
| 6.1 | ASPECTOS ÉTICOS | 61 |
| 6.2 | REVISÃO DE LITERATURA | 61 |
| 6.3 | DESENHO E DELINEAMENTO DE ESTUDO | 62 |
| 6.4 | PERÍODO E LOCAL DE ESTUDO | 63 |
| 6.5 | AMOSTRA/AMOSTRAGEM | 63 |
| 6.6 | PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS | 64 |
| 6.6.1 | Controle da massa corporal | 64 |
| 6.6.2 | Suplementação/ Gavagem | 65 |
| 6.6.3 | Controle do consumo de Ração | 67 |
| 6.6.4 | Treinamento resistido | 68 |
| 6.6.4.1 | Protocolo de adaptação ao treinamento | 68 |
| 6.6.4.2 | Teste de carga máxima (TCM) | 68 |
| 6.6.4.3 | Protocolo de treinamento resistido | 69 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 6.6.5 | Eutanásia | 69 |
| 6.6.6 | Extração do músculo e armazenamento | 70 |
| 6.6.7 | Expressão Gênica de MTOR, MURF-1 e MAFBX | 70 |
| 6.6.7.1 | Extração de RNA | 70 |
| 6.6.7.2 | Transcriptase reversa | 71 |
| 6.6.7.3 | Análise quantitativa da transcrição reversa por PCR tempo real | 72 |
| 6.6.8 | Análise histológica | 74 |
| 6.7 | ANÁLISE ESTATÍSTICA | 75 |
| 7 | RESULTADOS | 76 |
| 7.1 | CONSUMO DE RAÇÃO E PROTEÍNA | 76 |
| 7.2 | MASSA CORPORAL E DELTA (Δ) DE VARIAÇÃO DA MASSA CORPORAL | 83 |
| 7.3 | TESTE DE PESO MÁXIMO CARREGADO | 88 |
| 7.4 | EXPRESSÃO GÊNICA DE MTOR, MURF-1 E MAFBX | 89 |
| 7.5 | MASSA DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO | 93 |
| 7.6 | MÉDIA DO DIÂMETRO DAS CÉLULAS DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO | 95 |
| 8 | DISCUSSÃO | 96 |
| 9 | CONCLUSÃO | 103 |
| 10 | REFERÊNCIAS | 104 |
| 11 | ANEXOS | 111 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 MÚSCULO ESQUELÉTICO

O músculo esquelético representa cerca de 40% da massa corporal total de um ser humano adulto (Mcardle, Katch e Katch, 2011). Devido a isso além da função estrutural do músculo esquelético, este, possui numerosas funções vitais, tais como, a geração de força, a regulação de temperatura corporal, o metabolismo energético, a reserva de aminoácidos, a função imune e capacidade de hipertrofiar (Macintosh, Gardiner e Mccomas, 2006).

Nesse espectro o termo hipertrofia é devido ao aumento da área de secção transversal das fibras musculares individualmente (McGlory e Phillips, 2015).

E a manutenção da massa corporal total e integridade do músculo esquelético são importantes determinantes de saúde para o corpo (Adegoke e colaboradores, 2012) e sua redução está associada a várias condições clínicas negativas, tais como a caquexia associada ao câncer, a insuficiência cardíaca crônica, a inatividade, dentre outras doenças crônico degenerativas (Walker e colaboradores, 2012).

Além disso, a redução da massa muscular com o processo de envelhecimento (sarcopenia) é reconhecida como uma grande preocupação à saúde, uma vez que tem sido associada ao aumento da incapacidade funcional, perda de independência, e diminuição da expectativa de vida (Little e Phillips, 2009; Drummond e colaboradores, 2008; Walker e colaboradores, 2012).

No entanto, para o aumento da massa do músculo esquelético, depende da relação temporal entre síntese de proteína muscular e degradação de proteína muscular (Mcglory e Phillips, 2015). A síntese e degradação de proteínas são processos regulados dinamicamente e que atuam em conjunto para controlar as alterações de ganho e de perda de massa muscular.

Devido isso, a hipertrofia muscular ocorre quando a taxa de síntese excede a taxa de degradação, ou, inversamente a atrofia muscular ocorre sob

condições na qual a taxa de síntese proteica é menor em relação à degradação (Gordon e colaboradores, 2013).

1.2 VIA DE SÍNTESE DO MÚSCULO ESQUELÉTICO

A via intracelular principal que coordena os sinais na regulação da síntese de proteína muscular é a *Mammalian target of rapamycin* (MTOR) (Drummond e colaboradores, 2008).

A proteína MTOR (figura 1) é uma serina/treonina quinase de 289 kDa que pertence à família quinase relacionada à fosfoinositida 3-quinase (PI3K).

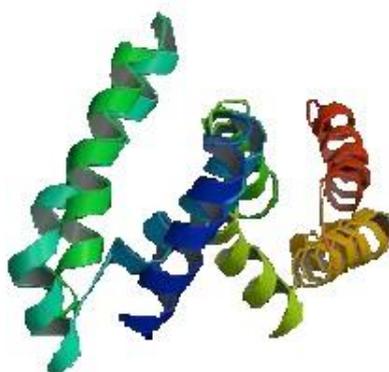


Figura 1: Mammalian target of rapamycin (MTOR), (<https://cansar.icr.ac.uk>).

A proteína MTOR é conhecida por desempenhar função primordial na regulação da massa muscular em resposta a uma grande variedade de estímulos, incluindo o estresse mecânico, a ingestão de nutrientes, a fatores de crescimento físico e as respostas hormonais (Ogasawara e colaboradores, 2014).

A proteína MTOR está dividida em dois complexos multiproteicos distintos, o complexo MTOR 1 (mTORC1) e o complexo MTOR 2 (mTORC2) (Guertin e Sabatini, 2007).

Sendo o complexo mTORC1 regulador positivo no crescimento e proliferação celular, promovendo processos anabólicos, tais como a biosíntese de proteínas e limitando os processos catabólicos com autofagia (Laplante e Sabatini, 2009). A mTORC-1 é composta de uma subunidade catalítica, bem como proteínas adaptadoras: *regulatory-associated protein of MTOR* (RAPTOR), que está associada a regulação, a *mammalian lethal with SEC13 protein 8* (mLST8), a *DEP domain-containing MTOR-interacting protein*

Figura 2: Ilustração esquemática dos fatores moleculares que regulam a síntese proteica do músculo esquelético e a proteólise (McGlory e Phillips, 2015).

1.3 VIA DE DEGRADAÇÃO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO

A atrofia do músculo esquelético é uma alteração que ocorre nos músculos de animais adultos como resultado de condições como desuso (por exemplo, imobilização, desnervação, inatividade), envelhecimento, inanição e vários estados de doença (por exemplo, caquexia). Independentemente do evento estimulador, a atrofia do músculo esquelético é caracterizada por uma diminuição no teor de proteína, diâmetro da fibra, produção de força e resistência à fadiga (Jackman e Kandarian, 2004).

A via de degradação de proteína conhecida como ubiquitina-proteassoma é o principal regulador da atrofia muscular esquelética. Esta via consiste em um sistema proteolítico dependente de adenosina trifosfato (ATP) onde os substratos são identificados para a degradação pelas moléculas de ubiquitina e segue para um processo coordenado por um trio de enzimas (E1, E2 e E3) (Murton e colaboradores, 2008), a ubiquitina (Ub) é uma proteína de 76 resíduos altamente conservada presente em todas as células eucarióticas (Eletr e Wilkinson, 2014).

As E1 são enzimas ativadoras da ubiquitina a partir da hidrólise de ATP, a seguir as E2 fazem a conjugação unindo essas moléculas de ubiquitinas formando um complexo chamado de poliubiquitinas, após isso as ligases de ubiquitina, ou E3-ligases fazem a ligação desse complexo à proteína alvo, que será reconhecido e degradado pelo proteassomo 26S, as cadeias de ubiquitina são recicladas na sequência através da ação de enzimas deubiquitinantes (Murton e colaboradores, 2008; Jackman e Kandarian, 2004; Glikman e Ciechanover, 2001), (figura 3, página 18).

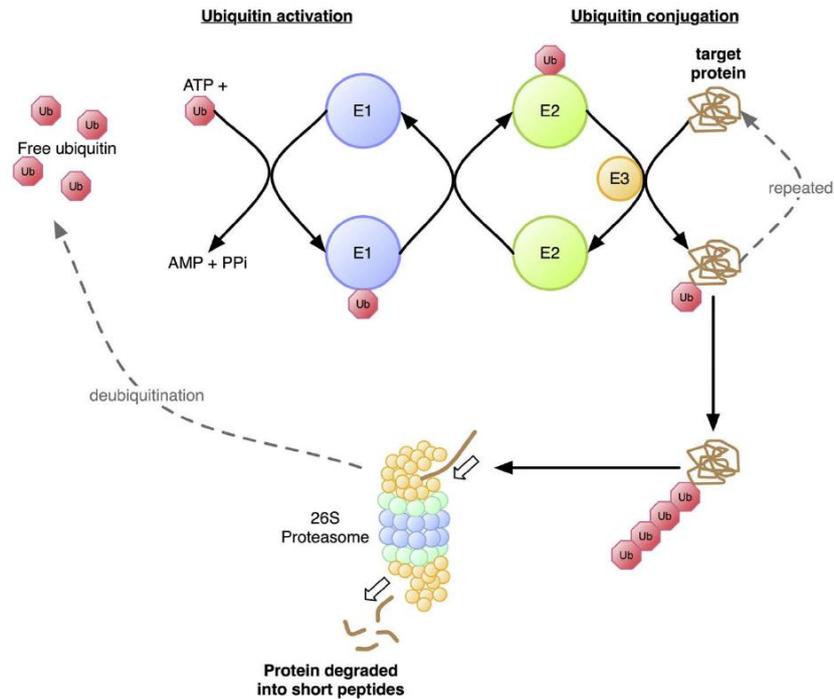


Figura 3: Sistema ubiquina-proteassomo, (Murton e colaboradores, 2008).

Das ligases de ubiquitina a *Muscle Ring Finger* (MURF-1), (figura 4), e *Muscle Atrophy F-Box* (MAFBX), (figura 5, página 19), são conhecidas como ligases E3 do sistema ubiquitina proteassoma e estão relacionadas com a sinalização da degradação e autofagocitose proteica (Rom, Reznick, 2016; Bondine e colaboradores, 2001).

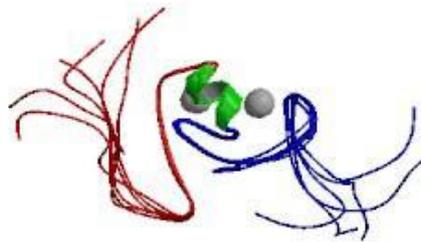


Figura 4: Muscle Ring Finger (MURF-1), (<https://cansar.icr.ac.uk>).

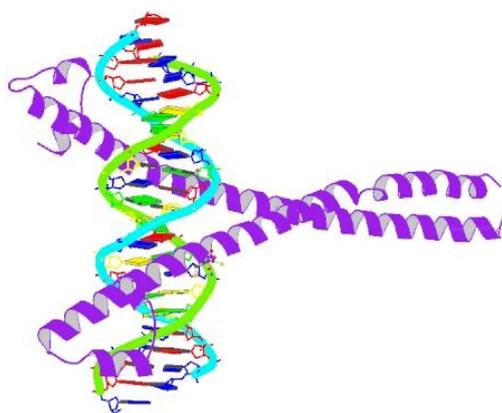


Figura 5: Muscle Atrophy F-Box (MAFBX), (<https://cansar.icr.ac.uk>).

Essas ligases tem sido usada como marcadores de degradação em diversos modelos de atrofia (Camerino e colaboradores, 2015), câncer (Khamoui e colaboradores, 2016), dentre outros.

1.4 TREINAMENTO RESISTIDO E VIAS DE SÍNTESE E DEGRADAÇÃO

O treinamento resistido é caracterizado por repetidas séries de contrações contra uma resistência, que resultam no rápido recrutamento de fibras musculares do tipo 2, também é um potente estímulo à síntese proteica muscular esquelética (Mcglory e Phillips, 2015; Phillips, 2009).

Desse modo, o estímulo mecânico promovido pelo treinamento resistido, influencia a via da MTOR através de fatores de crescimento, como o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) que estimulam MTORC-1 (Guertin e Sabatini, 2007).

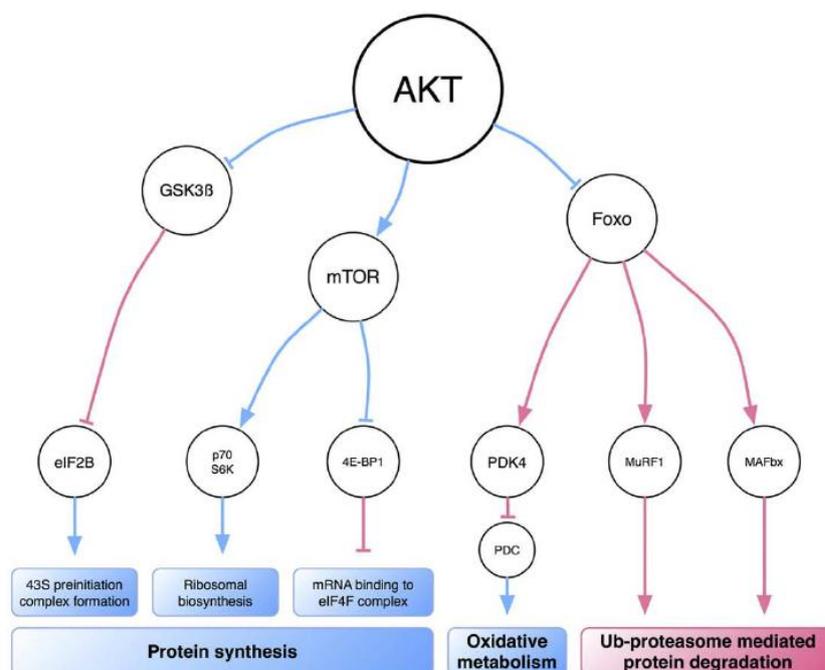
Mcglory e Phillips, (2015) revisaram sobre a série de sinalizações que podem regular a ativavação de MTORC-1. Uma delas é o homólogo da guanosina trifosfatase (GTPase) Ras enriquecido no cérebro (RHEB).

Sendo assim, quando o guanosina trifosfato (GTP) é ligado a RHEB, há uma estimulação mediada por RHEB na montagem de MTORC1. Este

processo é ainda regulado por uma proteína ativadora de GTPase (GAP) chamada complexo de esclerose tuberosa 2 (TSC2). A TSC2 ativa o RHEB para direcionar sua atividade GTPase, aumentando o estado do RHEB ligado a guanosina difosfato (GDP) / GTP e, assim, reduzindo a capacidade de ativar o MTORC1.

Em contrapartida, fatores de crescimento estimulam a fosfoinodistina 3-quinase (PI3K) que é chave na ativação da PKB (também conhecida como *protein kinase B-AKT*) (Laplante e Sabatini, 2013). A AKT fosforila o TSC2 para inibir sua interação com o RHEB, bem como inibe diretamente a função do inibidor de MTORC1 PRAS40, que exerce um efeito estimulatório sobre atividade do MTORC1 (Mcglory e Phillips, 2015).

O treinamento resistido também pode influenciar na via de degradação proteica ubiquitina proteassoma. Isso acontece devido MURF-1 e MAFBX apresentarem regiões promotoras controladas por fatores de transcrição da família *Forkhead Box O transcription factors* (FOXO) que podem ser fosforilados pela AKT, impedindo que se transloquem para o núcleo inibindo



assim sua atividade (figura 6, página 20).

Figura 6: Representação da AKT mediando via da MTOR e FOXO (Murton e colaboradores, 2008).

1.5 SUPLEMENTAÇÃO DE WHEY PROTEINS

Os suplementos proteicos são uns dos mais populares entre os praticantes de atividade física com a principal finalidade de aumentar a massa magra (American Dietetic Association, 2007).

Dentre eles, as proteínas do soro do leite, a Whey Proteins, têm sido muito utilizadas por praticantes de atividades físicas e atletas, especialmente por possuírem alto valor nutricional e apresentarem relação comprovada com a hipertrofia muscular (Carrilho, 2013).

Whey Proteins são um dos componentes da proteína do leite e contém aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), como leucina, isoleucina, valina, que possuem benefícios importantes à saúde, especialmente ao músculo esquelético (Pal, Radavelli-Bagatini, 2013), (figura 7).



Figura 7: Composição de proteína do leite.

Os aminoácidos de cadeia ramificada perfazem 21,2% de sua composição e todos os aminoácidos essenciais constituem 42,7%. Essa particularidade torna whey proteins uma fonte proteica concentrada em

aminoácidos essenciais, especificamente leucina, em comparação às demais fontes de proteína (Terada e colaboradores, 2009).

Deste modo, esse perfil de aminoácidos torna a sua digestão e absorção intestinal mais rápida, o que promove elevação da concentração de aminoácidos no plasma e estimula a síntese de proteínas nos tecidos (Haraguchi, Abreu e De Paula, 2006).

Os aminoácidos representam um forte sinal que regula positivamente o mTORC1 e em especial a leucina (Laplante e Sabatini, 2013). A ativação de mTORC-1 a partir de aminoácidos acontece independente de TSC-1/2, diferentemente do treinamento resistido, isto porque a via mTORC1 permanece sensível à privação de aminoácidos em células que não possuem TSC1 ou TSC2 (Laplante e Sabatini, 2009), (figura 8).

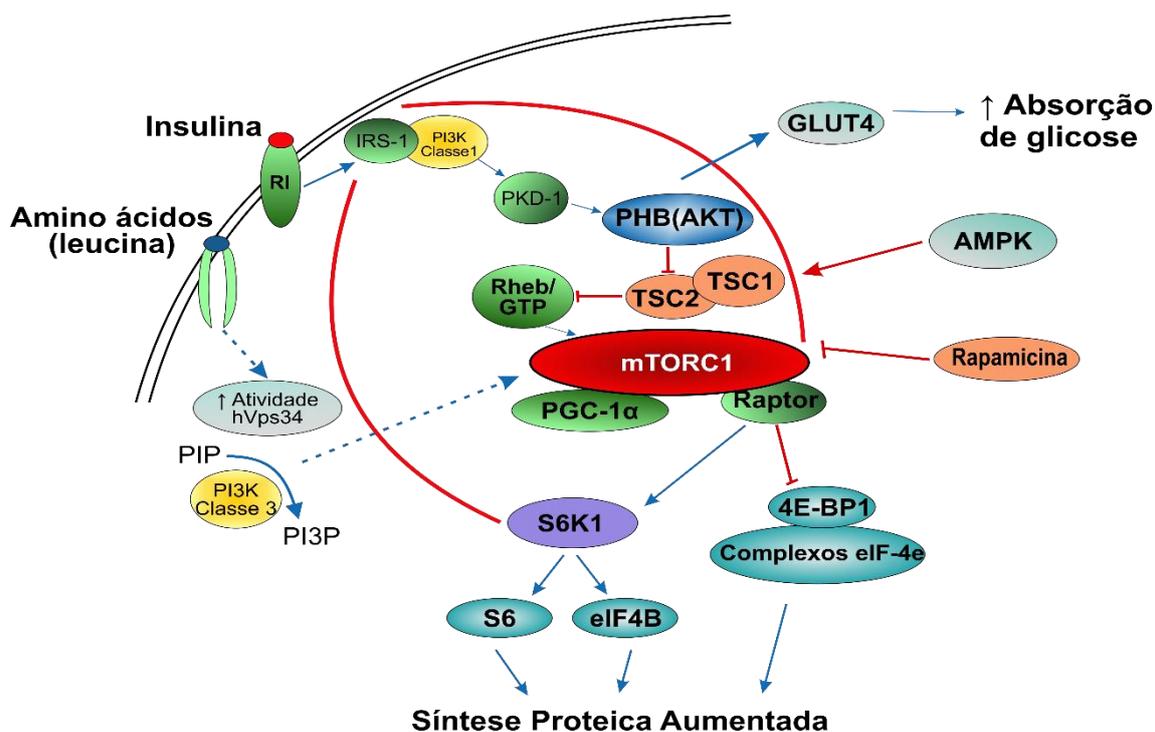


Figura 8: Ativação do complexo mTORC-1 por aminoácidos (McIver, Wycherley e Clifton, 2012).

Portanto, a fosforilação de mTOR pode ser melhorada pelo consumo de aminoácidos e proteínas, especialmente aqueles com alto teor de leucina (Luo, Chen e Yu, 2013).

1.6 RECOMENDAÇÕES DO CONSUMO DIÁRIO DE PROTEÍNA

A dose ideal para o consumo de proteína aplicado ao aumento da síntese proteica ainda é motivo de constante investigação, e suas recomendações variam de acordo com condições como idade, nível de treinamento ou período do treinamento. Em revisão sistemática feita por Naderi e colaboradores (2016), os autores sugerem doses de 0,20 a 0,25g/kg da massa corporal para indivíduos jovens e 0,40g/kg para indivíduos idosos nas refeições frequentes durante o dia, ou 20-25g pós exercício para atletas jovens e 40g/ dia após o exercício para atletas adultos.

A recomendação do American College of Sports Medicine (2016) em posicionamento oficial sugere que a quantidade de proteína necessária para apoiar adaptação metabólica, reparação, remodelação e *turnover* proteico varia entre 1,2g/kg e 2,0g/kg. Já Phillips e Van Loon (2011) sugerem que a dose ideal para indivíduos sedentários é de 0,8g/kg/dia, de 1,2 a 2,0g/kg/dia para indivíduos atletas.

Doses maiores de 2,0g/kg/dia também já vem sendo estudadas para algumas ocasiões específicas. Em condições como o período de pré competição de fisiculturismo, caracterizado por um período de elevado nível de restrição calórica associado ao aumento no volume da atividade aeróbia, o estudo de Helms, Aragon, Fitschen, 2014 observaram que doses menores que 2,3g/kg/dia não mostraram eficiência na manutenção de massa magra em fisiculturistas, portanto, sugerindo que doses mais elevadas, entre 2,3 a 3,1g/kg/dia, parecem ser mais eficientes com o objetivo de manter a massa muscular nessa população

Em estudo feito por Macnaughton e colaboradores (2016), observou-se que uma dose de 40g/dia foi mais eficiente na resposta da síntese proteica muscular, quando comparado a uma dose de 20g/dia, associada a treinamento resistido em homens jovens saudáveis, treinados. Neste mesmo estudo, a atividade da S6K1, que é uma via chave da sinalização de MTORC1 e regula a síntese proteica muscular, foi maior no grupo que recebeu a dose de 40g/kg.

Em estudo parecido, D'Souza e colaboradores (2014), observaram que a fosforilação de S6K1 foi dose dependente à quantidade diária de suplementação de whey proteins, além do mais, o estudo mostra que 10g/dia são suficientes para prevenir a redução de aminoácidos essenciais na corrente sanguínea de homens idosos, mas sugere que doses entre 30 e 40g/dia são necessárias para aumento significativo desses aminoácidos intramuscular.

Em estudo com desenho semelhante, Moore e colaboradores (2008) avaliaram as respostas relacionadas a síntese proteica muscular com a administração de 5, 10, 20 ou 40g de proteína e apresentaram aumento significativo de síntese proteica muscular até a dose de 20g, porém quando essa dose era dobrada, não demonstrava diferença significativa, apresentando platô com a dose de 20g.

Visando sugerir uma dosagem adequada de ingestão de leucina com efeitos positivos sobre a hipertrofia e regeneração do músculo pós exercício resistido, Gil e Kim (2015) fizeram estudo adotando diferentes dosagens de leucina (10 e 50%) com e sem exercício resistido em ratos, e observaram que houve aumento de massa corporal no grupo que fez exercício resistido em relação ao grupo controle, porém, apesar do aumento na sinalização de proteínas relacionadas à síntese proteica, não houve diferença significativa na massa muscular entre a administração de leucina combinada com exercício e apenas a ingestão de leucina.

2 JUSTIFICATIVA

O treinamento resistido pode aumentar a síntese proteica quando há um balanço positivo da síntese em relação à degradação, e a partir disso um consequente aumento da massa do músculo esquelético. Um aumento na ativação da via MTOR pode provocar essa adaptação, ou a própria diminuição da ativação da via ubiquitina proteassoma, sem que haja aumento da via de síntese, pode aumentar área de secção transversa do músculo, como mostra o trabalho de Zanchi e colaboradores (2009).

Nessa mesma linha, a utilização de suplementos proteicos como whey proteins, tem um papel de potencializador da ativação dessas vias. O estudo de Gil e colaboradores (2005) mostra um aumento da ativação de MTOR em animais que ingeriram Leucina, porém esse aumento foi significativo e potencializador da massa do músculo esquelético quando foi associado ao treinamento resistido. Da mesma forma, estudos de Haraguchi e colaboradores (2015) que utilizaram whey proteins como fonte de proteína observou uma diminuição na expressão de MURF-1 em ratos que utilizaram whey proteins, independente de treinamento resistido, porém não influenciou na expressão de MAFBX.

As doses diárias de proteína parecem apresentar resultados diferentes e conflitantes na síntese proteica muscular, mostrando resposta dose dependente ora até a dose de 40g por dia e ora a dose de 20g por dia (D'Souza e colaboradores, 2014; Macnaughton e colaboradores, 2016; Moore e colaboradores, 2008).

Além disso, recomendações de ingestão diária de proteínas são comumente apresentadas em doses relativas à massa corporal total como melhor forma de administração (ACSM, 2016; Phillips e Van Loon, 2011; Helms, Aragon, Fitschen, 2014).

Desse modo, face ao exposto, este estudo se faz necessário ao investigar as vias de síntese e degradação proteica do músculo esquelético, visando verificar os efeitos nos mecanismos de sinalização da hipertrofia muscular em decorrência da suplementação com diferentes doses de whey proteins, relativas à massa corporal, estas associadas ao treinamento resistido.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO E/OU WHEY PROTEINS NA EXPRESSÃO GÊNICA

3.1.1 Exercício resistido com aparato de agachamento

Em estudo de Karagounis e colaboradores (2010), foram utilizados 36 ratos, machos, da linhagem Sprague Dawley, aproximadamente 6 semanas de idade e massa corporal inicial em gramas de 351 ± 17 e objetivando avaliar os efeitos de um curto prazo de exercício resistido sobre as vias de sinalização da hipertrofia muscular, os autores distribuíram os animais em 6 grupos com 6 animais cada: 1) controle (não realizou nenhum tipo de exercício); 2) uma sessão de exercício resistido e eutanaziados 3 horas após; 3) duas sessões de exercício resistido e eutanaziados 3 horas após a última sessão; 4) três sessões de exercício resistido e eutanaziados 3 horas após a última sessão; 5) três sessões de exercício resistido e eutanaziados 24 horas após a última sessão; e 6) três sessões de exercício resistido e eutanaziados 48 horas após a última sessão de exercício resistido.

A sessão de exercício resistido consistiu em 4 séries de 10 repetições, e intensidade de 75% da carga levantada em teste uma repetição máxima em aparato de exercício resistido para agachamento e nos animais que realizaram mais de uma sessão de exercício resistido o intervalo entre sessões era de 48 horas.

Após isso, foram avaliados a fosforilação de MTOR, AKT, p70S6K, S6, FOXO1, e proteína total de MAFBX e MURF-1. A fosforilação de MTOR e AKT não apresentou diferenças estatísticas significativas entre grupos, em contrapartida, a fosforilação de p70S6K, foi aumentada ($p < 0,01$) em aproximadamente 5 vezes após uma sessão de exercício resistido, 3,7 vezes maior ($p < 0,05$) após duas sessões de exercício resistido (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância) e 7,6 vezes maior ($p < 0,001$) após três sessões de exercício resistido ambos comparado ao grupo controle, além disso, o grupo que realizou três sessões apresentou fosforilação de

p70S6K 1,5 maior ($p < 0,05$) do que o grupo uma sessão (os autores informam a significância, porém não descrevem o valor de p) e 2,1 vezes maior ($p < 0,01$) do que o grupo que realizou duas sessões.

Em adição, após 24 e 48 horas de três sessões de exercício resistido, a fosforilação de p70S6K foi menor ($p < 0,05$) quando comparada aos demais grupos de exercício e não apresentou diferença ao grupo controle (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Em relação à fosforilação de S6, esta foi duas vezes maior após uma sessão de exercício resistido e 1,8 vezes maior ($p < 0,05$) após duas sessões de exercício quando comparados ao grupo controle (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância) após 24 e 48 horas de três sessões de exercício resistido os valores de fosforilação de S6 foram semelhantes ao grupo controle, não apresentando diferença estatística significativa.

O total de MAFBX e MURF-1 não apresentaram diferenças ($p = 0,07$) entre grupos, apenas uma tendência a diminuição ($p = 0,08$) após 48 horas da realização de três sessões de exercício resistido.

3.1.2 Exercício resistido em escada

No estudo feito por Wang e colaboradores (2015), realizado com 89 ratos Sprague Dawley (os autores não informam a idade e a massa corporal inicial), foi realizado uma sessão de exercício resistido em protocolo de subida em escada, com 10 subidas, com carga de 70% da massa corporal e 2 minutos de intervalo entre subidas.

Imediatamente após o protocolo de exercício resistido, os animais foram randomizados em 4 grupos com diferentes suplementações: grupo Whey Proteins (WP) com dose 0,4g/kg de massa corporal; dois grupos com doses diferentes de SustamineTM, que é a junção de dois aminoácidos, sendo a L-alanina e L-glutamina sendo; 2) uma dose baixa (LSUS) com dose de 0,1g/kg de massa corporal e outra com uma dose alta de (HSUS) com dose de 0,5g/kg

de massa corporal; 3) grupo placebo (PLA), com dose de 0,52g/kg de glicina; 4) grupo sedentário placebo (SED), que recebeu 0,52g/kg de glicina.

Neste estudo, as análises sanguíneas de insulina, de glicose, de lactato, de hormônio do crescimento (GH), de fator de crescimento semelhante a insulina I (IGF-I) foram feitas nos minutos zero, 20 e 40 após a ingestão dos suplementos. Além disso, foi avaliado a fosforilação das seguintes proteínas: MTOR, p70s6K, rpS6, AKT, AMPK, FOXO3A e NF- κ B p65.

O lactato sanguíneo apresentou aumento ($p < 0,05$) em todos os grupos no momento imediatamente após o exercício, apresentando significância estatística (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância), porém não diferiu ($p < 0,05$) estatisticamente entre grupos nos momentos 20 e 40 minutos (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

A glicose plasmática não apresentou diferença significativa imediatamente (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância) após o exercício, porém foi reduzida ($p < 0,05$) no grupo WP nos momentos 20 e 40 minutos, e menor ($p < 0,05$) do que o grupo SED 40 minutos após exercício resistido (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Em relação a fosforilação das proteínas, FOXO3A apresentou fosforilação maior nos grupos WP, LSUS e HSUS em 20 minutos pós exercício quando comparado aos grupos SED e PLA ($p < 0,05$), e não apresentou diferença entre grupos 40 minutos após exercício (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

A fosforilação de AMPK e NF- κ B foram inibidas nos grupos LSUS e HSUS, quando comparados a SED e PLA ($p < 0,05$) 20 minutos pós exercício, no entanto após 40 minutos de exercício os valores não apresentam diferenças ($p > 0,05$) (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

A fosforilação de AKT foi reduzida ($p < 0,05$) nos grupos WP, LSUS e HSUS 20 minutos após o exercício comparado a SED e PLA (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância), e essa redução ($p < 0,05$) é

mantida nos grupos WP e LSUS 40 minutos após o exercício (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

A fosforilação de MTOR foi maior em WP 20 minutos pós exercício apresentando diferença estatística de ($p < 0,05$), após 40 minutos a fosforilação de MTOR foi aumentada ($p < 0,05$) em WP, PLA e HSUS (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

A fosforilação de p70s6K foi aumentada ($p < 0,05$) em WP após 20 minutos de exercício quando comparada aos demais grupos com um aumento ($p < 0,05$) de sua fosforilação 40 minutos após exercícios nos grupos WP, LSUS e HSUS, quando comparados a SED e PLA (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Além disso, a fosforilação de rpS6 nos grupos PLA, LSUS e HSUS não foi diferente ($p < 0,05$) nos momentos 20 e 40 minutos pós exercício, no entanto foi aumentada ($p < 0,05$) em WP quando comparado a SED 20 minutos após exercício (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

De acordo com os resultados, a suplementação de Sustamine™ pode ser eficiente na redução nas vias de degradação proteica, principalmente pela redução de AMPK e NF- κ B e a suplementação de WP pode acelerar as vias de síntese proteica, através do aumento de MTOR e rpS6, sugerindo assim que a combinação de suplementação de Sustamine™ e WP pode aumentar a síntese e diminuir a degradação de proteínas musculares.

3.1.3 Exercício resistido por estímulo elétrico

Estudo feito por Sharp e colaboradores (2016), utilizando ratos Wistar machos (autores não informam a idade e a massa corporal inicial dos animais), no qual realizaram uma sessão aguda de exercício resistido com 4 séries de 8 repetições em modelo de agachamentos com eletrodo na base, e 70mV, frequência de 100Hz e 0,2 ms de duração do estímulo.

Oito semanas antes da sessão de exercício resistido, os animais foram randomizados em dois grupos: 1) tratamento no qual recebeu via oral 1,2ml de

água (CTL); 2) tratamento no qual recebeu 0,39g de Fortetropin® dissolvidos em aproximadamente 1ml de água. Após isso foram subdivididos em: 1) CTL controle; 2) CTL exercício resistido; 3) Fortetropin® controle; 4) Fortetropin® com exercício resistido.

Após os procedimentos experimentais, foram avaliadas a expressão gênica de MAFBX e MURF-1, além da síntese de músculo esquelético no gastrocnêmio do rato. A expressão de mRNA MAFBX foi diminuída de maneira significativa no grupo que utilizou Fortetropin® e exercício quando comparados a todos os outros grupos ($p < 0,001$), além disso a expressão de mRNA MURF-1 foi maior ($p < 0,05$) no grupo controle e exercício resistido quando comparado ao grupo Fortetropin® e exercício resistido (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Deste modo, este resultado aponta para uma eficiência de Fortetropin®, associado na redução da sinalização das vias de degradação mediada pelas E3 ligases no sistema ubiquitina proteassoma.

Estudo feito por Sudo e colaboradores (2015), utilizaram ratos machos da linhagem Wistar (os autores não informam idade, e massa corporal inicial) no qual realizaram treinamento resistido em modelo de contração involuntária através de estimulação excêntrica com cargas elétricas (ECC) de 4 a 10V, 100Hz de frequência, 4 msec de duração do pulso e 0,7 seg de duração, seguidos de 2,3 seg de intervalo, a sessão de exercício consistia em 40 repetições, além de que esse modelo de exercício foi realizado em combinação com restrição de fluxo sanguíneo (BFR). Estes animais foram divididos em quatro grupos: 1) ECC sem BFR; e três grupos com diferentes pressões de restrição: 140, 160 e 200 Torr.

Os autores avaliaram através de western blot a fosforilação de S6K1 nos grupos controle e nos que realizaram ECC com BFR a 200 Torr. A fosforilação de S6K1 foi maior nos grupos que realizaram ECC somente e ECC com BFR 200 Torr quando comparados aos grupos controles ($p < 0,01$), mas não apresentou diferenças estatísticas significativas entre esses dois grupos, mostrando que o exercício realizado com BFR tem um potencial de estímulos

de mecanismos de hipertrofia no mesmo nível do que esse exercício realizado apenas com ECC.

3.1.4 Exercícios combinados

Estudo feito por Ogasawara e colaboradores (2014), realizado com animais Sprague Dawley machos, com 10 semanas de idade e massa corporal inicial entre 310 gramas e 340 gramas. O objetivo do estudo foi avaliar se existe diferentes respostas na ativação de mTORC1 com exercício resistido realizado antes ou após o exercício aeróbio.

Para isso, o estudo foi dividido em dois experimentos, o primeiro avaliando o tempo de resposta da sinalização proteica após jejum noturno de 12 horas, no qual os animais foram eutanaziados nos momentos 0 hora, 1 hora, 3 horas após a rotina de exercício. E o segundo experimento verificou se existe diferentes respostas na ativação de mTORC1 com exercício resistido realizado antes ou após o exercício aeróbio, com os animais randomizados em dois grupos de exercício: 1) exercício aeróbio antes do exercício resistido; 2) exercício aeróbio depois do exercício resistido, com um intervalo de 1 hora entre exercícios, estes animais foram eutanaziados 3 e 6 horas após a sequência de exercícios.

O protocolo de exercício resistido consistiu em modelo de contração involuntária através de estimulação excêntrica do músculo tríceps sural, em um total de 5 séries de 10 estímulos com duração de 3 segundos cada e 3 minutos de intervalo entre séries em um estímulo elétrico com carga de aproximadamente 30V e frequência de estímulo de 10Hz.

O protocolo de exercício aeróbio consistiu em 60 minutos em esteira ergométrica a uma velocidade de 25m/min, que é a velocidade aproximadamente do limiar de lactato, porém os autores não informaram a realização de teste de esforço.

Para a avaliação das vias de síntese de proteína muscular, foram medidas a fosforilação de MTOR, AKT, p70S6K, além de AMPK e RAPTOR.

Os resultados do primeiro experimento demonstram que o efeito do exercício aeróbio realizado sozinho, AMPK, RAPTOR, AKT, MTOR e p70S6K apresentam o mesmo comportamento, que é o de aumentar ($p < 0,05$) imediatamente após o exercício aeróbio, mas retornam aos valores basais imediatamente após 1 hora de exercício aeróbio (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

De outra forma, como efeito do exercício resistido apenas, AMPK e RAPTOR apresentam aumento ($p < 0,05$) imediatamente após, mas voltam aos valores basais com 3 horas após o exercício resistido. Entretanto, AKT e MTOR aumentam ($p < 0,5$) após o exercício resistido e se mantem ($p < 0,05$) elevadas por até 3 horas após o exercício resistido e a p70S6K apresenta um aumento gradual ($p < 0,05$), alcançando seu maior valor 3 horas após o exercício resistido (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Além disso, no segundo experimento a fosforilação de AMPK e RAPTOR, 3 horas após a sessão de exercícios (aeróbio e resistido) foi maior ($p < 0,05$) no grupo que realizou exercício aeróbio após o exercício resistido (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Não obstante, a fosforilação de p70S6K aumentou independentemente da ordem dos exercícios (aeróbio e resistido), porém seu aumento foi menor no grupo que realizou exercício aeróbio após o exercício resistido.

A AKT e MTOR aumentaram ($p < 0,05$) após o exercício, porém não houve diferença entre grupos (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Em vista disso, o estudo demonstra que em uma sessão aguda de exercício resistido, a fosforilação de p70S6K, pode ser reduzida quando é feito um exercício aeróbio logo após o exercício resistido. Isso acontece devido a um aumento da sinalização de AMPK logo após o exercício aeróbio, que pode inibir a sinalização da cascata de MTORC1.

3.2 EXERCÍCIO FÍSICO CRÔNICO E/OU WHEY PROTEINS NA EXPRESSÃO GÊNICA

3.2.1 Treinamento resistido em escada

Segundo Zanchi e colaboradores (2009), em estudo com 20 ratas Wistar, sedentárias (os autores não informam a idade e nem a massa corporal inicial dos animais), após duas sessões de adaptação treinaram por 12 semanas com frequência de duas vezes por semana, e duas vezes ao dia com intervalo de quatro horas, com protocolo de treinamento resistido feito em escada, com 8 repetições por sessão, com intervalo de descanso de 3 minutos entre as repetições e intensidade entre 80% a 95% da carga máxima carregada voluntariamente em teste de força. O peso máximo carregado foi determinado a partir da oitava repetição realizada, se o animal obtivesse sucesso na última repetição, era feito um acréscimo de 2% até a falha.

Após isso, verificou-se a expressão gênica pelo método da reação em cadeia de polimerase (PCR) dos genes MAFBX, MURF-1, GAPDH, GSK-3 β , 4EBP1, eIF2B ϵ , massa do músculo plantar (mg), razão massa do músculo plantar/massa corporal, apresentando os seguintes resultados: aumento absoluto ($p < 0,01$) de 12% na massa do músculo plantar do grupo que realizou treinamento resistido, a razão massa do músculo plantar/massa corporal apresentou aumento ($p < 0,01$) de 13,7%.

Em relação a expressão gênica de MAFBx apresentou redução ($p < 0,05$) de aproximadamente 60%, MURF-1 apresentou redução ($p < 0,05$) de aproximadamente 40%, a expressão gênica de GAPDH, GSK-3 β , 4EBP1 e eIF2B ϵ não apresentaram significância estatística ($p < 0,05$) (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Dessa forma sugerindo que houve aumento da massa do músculo plantar, e esta promovida pela diminuição da expressão dos genes das vias de

degradação proteica, apesar de não ocorrer aumento da expressão dos genes das vias de síntese proteica.

No estudo de Hellyer e colaboradores (2013), realizado com 60 ratos Sprague Dawley, machos, 3 semanas de idade e aproximadamente 56 gramas, buscou investigar o efeito da realização de treinamento resistido de intensidade moderada (os autores consideram intensidade moderada a carga de até 80% da massa corporal) sobre a hipertrofia e sobre a expressão e fosforilação das proteínas MTOR, AKT e RP-S6.

Para isso, os animais foram divididos em dois grupos: 1) Sedentário; e 2) Treinamento Resistido. O período de treinamento foi de 10 semanas, com frequência de 3 vezes por semana em modelo de treinamento resistido realizado em escada vertical. A cada sessão os animais realizavam 3 séries de 10 repetições com 2 minutos de intervalo entre séries, e intensidade com carga equivalente a aproximadamente 3 Joule nas duas primeiras semanas e aproximadamente 24 joules na décima semana de protocolo. Isso consistia em aumento progressivo de aproximadamente 3 Joule por semana e a carga final era de aproximadamente 80% da massa corporal.

Foram avaliados a massa corporal, área de secção transversa do músculo flexor longo do halux, expressão e fosforilação de MTOR, AKT, RP-S6 e AMPK. Após 10 semanas de treinamento resistido, o grupo sedentário teve massa corporal aproximadamente 12% maior ($p < 0,05$) do que o grupo treinamento resistido (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

A área de secção transversa do músculo flexor longo do halux foi aproximadamente 11% maior ($p = 0,01$) no grupo treinamento resistido em relação ao grupo sedentário.

A expressão de MTOR, AKT e AMPK foi equivalente ($p < 0,05$) nos dois grupos, e a fosforilação de MTOR, AKT e AMPK também não obteve diferenças estatísticas ($p < 0,5$) entre grupos (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Por conseguinte, a proporção da proteína RP-S6 fosforilada para não fosforilada foi cerca de 6 vezes menor nos animais do grupo treinamento resistido quando comparados aos sedentários (os autores informam a significância de $p < 0,05$, porém não descrevem o valor de p).

O estudo realizado por Luo e colaboradores (2013), utilizando 18 ratos Sprague Dawley, machos, com 18 a 20 meses de idade, e massa corporal inicial em gramas de 554 ± 39 , foram randomizados em dois grupos: 1) sedentários; 2) treinamento resistido.

Para isso, o protocolo de treinamento resistido teve duração de 9 semanas, frequência de 5 vezes por semana, e o modelo de treinamento resistido foi a subida em escada, no qual uma sessão de treinamento consistia em 10 subidas com carga de 10% do peso corporal na primeira semana e um aumento de 10% a cada semana.

Após isso, foram avaliados a massa corporal, a massa absoluta e relativa do músculo gastrocnêmio, área de secção transversa, além da fosforilação de AKT e MTOR, FOXO3 e AMPK.

A massa corporal foi significativamente menor no grupo que realizou treinamento resistido ($p < 0,01$) e a massa absoluta do gastrocnêmio (g) e a massa relativa do gastrocnêmio (mg/g) teve valores significativamente maiores quando comparadas ao grupo sedentário ($p < 0,01$). Além disso, o diâmetro das miofibrilas da porção branca do gastrocnêmio foram significativamente maiores ao final de 9 semanas de treinamento resistido, quando comparado ao grupo sedentário ($p < 0,01$).

De outra forma, a fosforilação de AKT e MTOR foi significativamente menor no grupo treinamento resistido ($p < 0,01$), não obstante, a atividade de FOXO3 e AMPK foi aumentada significativamente nesse grupo ($p < 0,01$).

Nesse sentido, a redução na atividade das vias de AKT/ MTOR pode contribuir com o processo de autofagia em ratos envelhecidos, o que pode ocasionar efeitos benéficos sobre a massa do músculo esquelético.

Estudo realizado por Macedo e colaboradores (2014) utilizou 44 ratos machos (os autores não informam a linhagem, a idade, e a massa corporal

inicial dos animais). Os ratos realizaram protocolo de treinamento resistido com subida em escada, passando por um período de adaptação com duração de 10 dias e teste peso máximo carregado nos momentos: 1) pré treinamento; 2) após 4 semanas de treinamento; 3) após 8 semanas de treinamento; 4) após 10 dias de tratamento com Dexametasona. Após isso, foram alocados em quatro grupos experimentais: 1) controle sedentário; 2) sedentário tratado com Dexametasona; 3) treinamento resistido controle; 4) treinamento resistido tratado com Dexametasona.

Os grupos que realizaram treinamento resistido fizeram protocolo com duração de 8 semanas, frequência de 5 vezes por semana e cada sessão consistia em 14 a 20 subidas em escada de treinamento, com carga de 65% do peso máximo carregado em teste, considerado de baixa intensidade.

Os grupos que receberam tratamento com Dexametasona receberam dose de 0,5mg/kg de peso corporal de Decadron® dissolvido em salina com duração de 10 dias realizados ao final do período de treinamento, e os grupos controle sedentário e treinamento resistido sedentário receberam injeção com solução salina pelo mesmo período e com o mesmo volume de injeção dos grupos tratados com Dexametasona.

Foram avaliados a massa corporal, consumo alimentar, peso máximo carregado em teste, glicose sanguínea, massa dos músculos flexor longo do halux, tibial anterior e sóleo, massa óssea da tíbia, expressão das vias de síntese proteica muscular AKT e MTOR e vias de degradação proteica MURF-1, MAFBX e FOXO3a normalizados por expressão de GAPDH.

A massa corporal aumentou ($p < 0,05$) de maneira similar em todos os grupos no decorrer do tempo (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Em contrapartida, após 10 dias de tratamento com Dexametasona a massa corporal diminuiu ($p < 0,05$) em 19% no grupo sedentário e 16% no grupo treinado (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

O consumo alimentar apresentou comportamento semelhante em todos os grupos e o tratamento com Dexametasona provocou uma diminuição

($p < 0,05$) do consumo nos grupos, comparados com seus respectivos grupos controle (os autores não descrevem o valor do p estatístico, apenas a significância).

O peso máximo carregado no teste foi similar entre os grupos no momento inicial, o treinamento resistido provocou aumento ($p < 0,05$) após 8 semanas de treinamento e o tratamento com Dexametasona não provocou diminuição ($p < 0,05$) do peso máximo carregado (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

A massa dos músculos flexor longo do halux, tibial anterior e sóleo foram corrigidos pelo comprimento da tibia. A massa do músculo flexor longo do halux nos grupos sedentários teve redução ($p < 0,05$) de aproximadamente 28% no grupo tratado com Dexametasona em comparação com o grupo controle (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

O treinamento resistido de baixa intensidade não provocou aumento ($p < 0,05$) da massa do músculo flexor longo do halux no grupo treinamento controle comparado ao grupo sedentário controle, porém atenuou a diminuição ($p < 0,05$) da massa do músculo flexor longo do halux provocada pelo tratamento com Dexametasona quando comparado ao grupo sedentário tratado com Dexametasona, (-18% treinamento e Dexametasona comparado a treinamento controle e -28% sedentário dexametasona comparado a sedentário controle) - os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância.

O músculo tibial anterior apresentou diminuição ($p < 0,05$) de 21% no grupo sedentário tratado com Dexametasona quando comparado ao seu respectivo controle e diminuição ($p < 0,05$) de 18% do grupo treinamento e Dexametasona quando comparado ao treinamento controle (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

No músculo flexor longo do halux, a expressão de AKT diminuiu ($p < 0,05$) em 37% provocado pelo tratamento com Dexametasona comparado com o grupo controle nos animais sedentários, porém não apresentou diferença ($p < 0,05$) nos grupos treinados (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

No músculo tibial anterior, AKT teve uma diminuição ($p < 0,05$) de 47% do grupo sedentário tratado com Dexametasona comparado com seu respectivo controle (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

No músculo flexor longo do halux, MURF-1 teve um aumento ($p < 0,05$) de 67% e no tibial anterior um aumento ($p < 0,05$) de 41% no grupo sedentário tratado com Dexametasona comparado ao seu grupo controle. O treinamento associado a Dexametasona atenuou os valores de MURF-1 apenas comparado ao grupo sedentário controle com resultado similar no flexor longo do halux e tibial anterior (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Nos músculos flexor longo do halux e tibial anterior, FOXO3a e MTOR não apresentaram diferenças ($p < 0,05$) entre grupos tratados com Dexametasona comparados a seus respectivos controles. MTOR apresentou expressão maior nos grupos que realizaram treinamento resistido, com ou sem Dexametasona, quando comparados ao grupo sedentário controle no músculo flexor longo do halux (os autores não mencionam o valor de p estatístico, apenas o da significância).

A expressão de MAFBX em flexor longo do halux foram menores ($p < 0,05$) nos grupos treinados quando comparados aos seus controles sedentários (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

No tibial anterior os valores de MAFBX não apresentaram diferenças ($p < 0,05$) entre os grupos. O músculo sóleo não apresentou diferenças ($p < 0,05$) em sua massa e na expressão de AKT, MTOR, FOXO3a, MURF-1 e MAFBX na comparação entre grupos para a expressão de proteínas relacionadas à síntese e degradação proteica (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Os achados desse estudo demonstram uma redução de flexor longo do halux provocada pelo tratamento com dexametasona e que pode ser atenuada com treinamento resistido de baixa intensidade, e está associado a mecanismos chave na regulação da síntese proteica muscular como MTOR, MURF-1 e MAFBX.

No estudo feito por Gil e colaboradores (2015), foram utilizados 42 ratos Sprague Dawley machos (os autores não informam a idade e massa corporal inicial dos animais), randomizados em seis grupos: 1) Controle; 2) Leucina 10% (L1); 3) Leucina 50% (L5); 4) Treinamento Resistido (TR); 5) Treinamento Resistido e Leucina 10% (TL1); 6) Treinamento Resistido e Leucina 50% (TL5).

O protocolo de treinamento resistido consistiu em um período de 8 semanas, frequência de 3 vezes por semana em modelo de subida em escada, com 4 subidas e cargas de 50%, 75%, 90% e 100% de uma repetição máxima, esta adotada como 100% da massa corporal, e um aumento de 30 gramas a cada 10 sessões de treinamento resistido.

Para a suplementação de leucina foi adotada a dose de 0,135g/kg para os grupos TR e leucina 10% e 0,675g/kg para os grupos TR e leucina 50%, estipuladas a partir da recomendação diária de leucina 1,35g /kg de massa corporal.

Após isso foram avaliados a massa corporal, massa muscular de flexor longo do halux, além da fosforilação de MTOR. A massa corporal não apresentou diferenças ($p < 0,05$) entre grupos, porém 39% maior ($p < 0,05$) quando comparado ao momento inicial em todos os grupos, e um aumento maior ainda ($p < 0,05$) no grupo T5, aumentando 39% (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

A massa absoluta de flexor longo do halux não apresentou diferenças ($p < 0,05$) (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância), porém a massa de flexor longo do halux relativa à massa corporal no grupo TR apresentou significativamente valores maiores quando comparado aos grupos controle e L1 e L5 ($p = 0,03$). Entre os grupos que realizaram treinamento resistido não foram observadas diferenças ($p < 0,05$) (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

A fosforilação de MTOR foi maior no grupo L5 quando comparado ao grupo controle, mas não foi diferente do grupo TR ($p = 0,04$). Além do mais, os grupos TL1 e TL5 apresentaram valores significativamente maiores quando comparados ao grupo controle ($p = 0,01$) e a fosforilação de MTOR em TL5

também foi significativamente maior do que no grupo TR ($p=0,03$), mas não foi diferente de TL1.

Desta forma, os resultados mostram uma sinalização maior de MTOR de acordo com a presença da suplementação de leucina, essa se mostrando como dose dependente, porém essa sinalização não se refletiu em aumento na massa muscular relativa maior do que o grupo que realizou apenas treinamento resistido.

Em estudo feito por Krug e colaboradores (2016), utilizando 43 ratos machos (os autores não informam a linhagem, idade, e massa corporal inicial dos animais), em um protocolo experimental de 70 dias, foram divididos em quatro grupos: 1) Controle Sedentário (CS); 2) Sedentário com Dexametasona (DEX); 3) Controle Treinamento Resistido (CT); 4) Treinamento Resistido com Dexametasona (TDEX).

Os grupos CS e CT receberam tratamento com injeção intraperitoneal de solução salina nos últimos dez dias de protocolo e os grupos DEX e TDEX receberam tratamento com injeção intraperitoneal de Dexametasona (Decadron® 0,5mg/kg de massa corporal) nos últimos 10 dias. Os grupos CT e TDEX realizaram treinamento resistido de alta intensidade.

Para isso, foi realizado teste de carga máxima, e reajustado a cada 4 semanas, alta intensidade foi considerada 80% do peso máximo carregado no teste. O protocolo de treinamento foi realizado em um período de 8 semanas, com frequência de 5 vezes por semana e cada sessão consistia em 10 subidas em escada com 80% do peso máximo carregado no teste de carga máxima.

Após isso, foram avaliados massa corporal, massa do músculo sóleo e flexor longo do halux, valores dos testes de capacidade máxima voluntária (CMV) realizados em 4 momentos: CMV1 (pré treinamento); CMV2 (após 4 semanas de treinamento); CMV3 (após 8 semanas de treinamento); CMV4 (após todos os procedimentos experimentais); além da fosforilação de MTOR, MAFBX e MURF-1.

Em relação a massa corporal, esta foi reduzida de ($p < 0,05$) nos grupos DEX e TDEX quando comparados ao grupo controle no final do tratamento (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

O tratamento com Dexametasona reduziu ($p < 0,05$) 20% o peso do músculo flexor longo do halux, quando comparado ao CS, e foi atenuado com o treinamento de alta intensidade ficando 16% menor ($p < 0,05$) em TDEX comparado a CT (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância). Além disso, o treinamento resistido promoveu um aumento ($p < 0,05$) de 10% do peso do músculo FHL em CT quando comparado a CS (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Os testes de CVM não apresentaram diferenças ($p < 0,5$) entre grupos nos momentos CVM1. Os grupos que realizaram treinamento resistido apresentaram valores maiores ($p < 0,05$) em CVM3, quando comparados aos grupos sedentários – 72% em TC e 69% em TDEX (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Além disso, o tratamento de 10 dias com Dexametasona não diminuiu ($p < 0,05$) a força em CVM, porém o grupo TDEX mostrou um aumento ($p < 0,05$) em CVM4 comparado com CVM3 (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

O tratamento com Dexametasona não alterou a fosforilação de MTOR, MAFBX e MURF-1, mas o treinamento resistido aumentou ($p < 0,5$) em 63% a fosforilação de MTOR nos grupos CT e TDEX quando comparados aos seus respectivos grupos controles (os autores não descrevem o valor de “ p ”, apenas o de significância). Além disso, MURF-1 foi aumentada ($p < 0,05$) no grupo DEX em cerca de 37% quando comparada aos animais sedentários, e o treinamento resistido impediu esse aumento no grupo TDEX (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

3.2.2 Treinamento resistido por estímulo elétrico

Estudo realizado por Ogasawara e colaboradores (2013), avaliando 30 ratos Sprague Dawley, machos, com 10 semanas de idade e massa corporal inicial em gramas de $356,1 \pm 4,4$, objetivando avaliar atividade de MTOR sobre efeito de treinamento resistido e o destreinamento.

Para isso os animais foram randomizados em quatro grupos: 1) 1 sessão de exercício resistido; 2) 12 sessões de treinamento resistido; 3) 18 sessões de treinamento resistido; e 4) destreinamento, no qual foram destreinados quando completaram 12 sessões de treinamento por 12 dias e realizaram uma sessão de exercício.

As sessões de treinamento resistidos consistiam em modelo de estimulação elétrica com 5 séries de 5 contrações com duração de 5 segundos cada e intervalo de 5 minutos entre séries, realizado no músculo gastrocnêmio direito com uma voltagem de aproximadamente 30V e frequência de 60Hz, ajustado para a máxima contração isométrica, e o músculo gastrocnêmio esquerdo foi utilizado como controle.

Depois disso, foram avaliados a massa corporal, massa absoluta e relativa do gastrocnêmio, além da fosforilação de p70S6K e total de p70S6K. A massa muscular húmida e massa corporal relativa ao peso foram significativamente maiores em 8,6% no grupo 12 sessões ($p < 0,01$) e significativamente maior em 10,7% no grupo 18 sessões ($p < 0,01$), quando comparados aos seus controles.

Além disso, após 12 sessões e 12 dias de destreinamento, a massa muscular e massa muscular relativa ao peso se manteve equivalente ao valores pós-treinamento.

A fosforilação de p70S6K aumentou ($p < 0,05$) após uma sessão de treinamento e não se mantém elevados logo após realizados 12 ou 18 sessões. Além disso, p70S6K foi aumentada ($p < 0,05$) após o período de 12 semanas de destreinamento (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Não obstante, 12 sessões de treinamento resistido aumentaram ($p < 0,05$) o total de p70S6K e 12 dias de destreino tendem a diminuir ($p < 0,05$) a p70S6K (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Estes resultados demonstram a capacidade do treinamento resistido em estimular ao aumento do músculo esquelético e também da manutenção da massa total mesmo após um período curto de destreino.

3.2.3 Treinamento resistido na água

No estudo de Haraguchi e colaboradores (2010), utilizando 32 ratos machos de linhagem Fischer (os autores não informam a idade e a massa corporal inicial dos animais), e divididos em 4 grupos: 1) Controle Sedentário (CS); 2) Controle Treinamento Resistido (CE); 3) Whey Proteins Sedentário (WS); 4) Whey Proteins Treinamento Resistido (WE). Os grupos CS e CE fizeram uso de ração padrão AIN-93M, tendo caseína como fonte proteica, e os grupos WS e WE fizeram uso de ração padrão enriquecida com Whey Proteins, em vez de Caseína.

Os animais dos grupos CE e WE realizaram treinamento resistido em período de 8 semanas e frequência de 5 vezes por semana em modelo de treinamento resistido em meio líquido, induzindo os animais a realizarem saltos em um recipiente circular correspondente a 150% do comprimento do animal.

O protocolo adotado foi o de 4 séries de 10 saltos, com 1 minuto de intervalo entre séries e a carga presa na calda correspondente à 25% da massa corporal e aumento de 5% por semana até 55% da massa corporal nas últimas duas semanas de treinamento resistido.

Ao final, foram analisados a ingesta de alimentos, peso corporal, peso do músculo gastrocnêmio. A ingesta de alimentos foi menor com significância estatística ($p = 0,002$) nos grupos que realizaram treinamento resistido, e esta não foi modificada pelo tipo de dieta conforme podemos entender com base no valor do teste estatístico ($p = 0,382$).

Em relação ao peso corporal e o peso do músculo gastrocnêmio, estes apresentaram aumentos similares quando comparados ao momento inicial em todos os grupos. Porém, o grupo CE apresentou valores menores quando comparados aos outros grupos, com significância estatística de ($p=0,032$) para peso corporal quando visto a influência de dieta *versus* treinamento e para o músculo ($p=0,032$) de influência da dieta e ($p=0,046$) quando avaliado a influência do treinamento resistido.

Esses achados demonstram a eficiência da dieta enriquecida com Whey Proteins em manter um aumento regular na massa corporal e massa muscular, além de prevenir sua diminuição.

Em outro estudo de Haraguchi e colaboradores (2014), foram utilizados 32 ratos machos Fischer com aproximadamente 60 dias de idade e 110 gramas de massa corporal, divididos em quatro grupos: 1) Controle Sedentário (CS); 2) Controle Exercício (CE); 3) Whey Proteins Sedentário (WS); 4) Whey Proteins Exercício (WE), com um total de 8 animais por grupo. Os grupos CE e WE realizaram treinamento resistido pelo período de 8 semanas e frequência de 5 vezes por semana em modelo treinamento resistido em natação.

Para isso, o protocolo adotado foi o de 4 séries de 10 saltos em um recipiente circular correspondente a 150% do comprimento do animal, 1 minuto de intervalo entre séries e a carga presa na calda correspondente à 25% da massa corporal e aumento de 5% por semana até 55% da massa corporal nas últimas duas semanas de treinamento. Os grupos CS e CE receberam ração padrão para roedores, e o grupos WS e WE receberam ração padrão modificada com Whey Proteins ao invés da proteína de controle.

Após isso, foram avaliados ganhos de peso corporal, peso dos músculos gastrocnêmio e *extensor digitorum longus* (EDL), além da expressão gênica das proteínas musculares MTOR, MURF-1 e MAFBX. O peso corporal e do músculo gastrocnêmio e EDL foram similares nos grupos CS, WS e WE, porém maiores ($p=0,021$) do que o grupo CE.

Em relação a expressão gênica de MTOR, foi maior nos grupos que fizeram dieta com Whey Proteins, além do grupo CE apresentar uma queda acentuada ($p<0,05$) quando comparado aos demais (os autores não descrevem

o valor de p , apenas o de significância). A expressão de MAFBX não apresentou diferenças significativas entre grupo ($p=0,115$) e MURF-1 foi reduzida de forma significativa nos grupos que realizaram treinamento resistido ($p<0,001$) independente da dieta a base de Whey Proteins.

Estes resultados apontam que Whey Proteins contribui como uma ajuda nutricional diminuindo a expressão das vias de degradação proteica e prevenindo a diminuição das vias de síntese, entretanto os autores apontam limitações observadas no estudo, dentre elas um n de representatividade baixa para o objetivo do estudo e os resultados demonstrados na espécie de ratos utilizados nesse estudo (Fischer) podem não refletir em resultados obtidos no músculo esquelético em humanos.

3.2.4 Treinamento resistido em esteira

Em estudo de Aparício e colaboradores (2010), 96 ratos machos Wistar (os autores não informam a idade, e massa corporal inicial dos animais) foram submetidos a 12 semanas de treinamento resistido em esteira com velocidade constante de 40 cm/s e carga presa na calda entre 55% e 90% de 1RM, em superfície plana e estável, a uma frequência de 3 a 4 vezes semanais. Os ratos foram randomizados em 4 grupos: 1) ingesta normal de proteína e sedentário; 2) ingesta normal de proteína e treinamento resistido; 3) ingesta alta de proteína sedentário; 4) ingesta alta de proteína e treinamento resistido.

Para os grupos de ingesta normal de proteína foi considerada a quantidade de 11,7% de proteína diária e para os grupos de quantidade alta foi considerado o valor de 44,3% de proteína diária, utilizando Whey Proteins como a única fonte de proteína.

Após o período experimental, o peso corporal no grupo que realizou treinamento resistido e baixo consumo de proteína foi menor ($p<0,01$) quando comparado aos grupos sedentário e alto consumo de proteína.

Além disso, o peso dos músculos quadríceps e gastrocnêmio foram maiores ($p < 0,01$) nos grupos que fizeram alto consumo de proteína, e para o grupo que realizou treinamento e alto consumo de proteína.

3.2.5 Treinamento aeróbio na água

No estudo de Medeiros e colaboradores (2010), foram utilizados ratos Wistar machos com 4 semanas de idade (os autores não informam o peso corporal inicial dos animais), e foram divididos em quatro grupos com 6 animais cada: 1) grupo controle, alimentados com dieta padrão; 2) grupo controle treinamento aeróbio alimentados com dieta padrão para roedores; 3) grupo obeso sedentário, alimentados com dieta rica em gordura por dois meses; 4) grupo obeso treinado, submetido a dieta rica em gordura e treinamento aeróbio.

Após isso os animais realizaram protocolo de treinamento aeróbio que teve duração de 12 semanas, frequência de 5 vezes por semana e cada sessão consistia em 1 hora de natação com carga de 5% da massa corporal presa na calda do animal. Foram avaliados a massa corporal final, além da fosforilação de MTOR, AKT, p70S6K, S6, 4E-BP1, FOXO1, e MAFBX no músculo cardíaco.

Em relação a massa corporal dos grupos submetidos à obesidade por dieta rica em gordura, apresentaram maiores valores ($p < 0,05$) quando comparados aos grupos controle (os autores informam a significância, porém não descrevem o valor de p).

A fosforilação de AKT foi 3,3 vezes menor ($p < 0,05$) no grupo obeso sedentário quando comparado ao controle, e uma diminuição ($p < 0,05$) de 2,3 vezes quando comparado ao grupo obeso que realizou treinamento aeróbio (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Em adição, a fosforilação de MTOR foi reduzida ($p < 0,05$) 2,7 vezes no grupo obeso sedentário quando comparado ao grupo controle sedentário e o grupo obeso que realizou treinamento aeróbio teve fosforilação de MTOR 2

vezes maior ($p < 0,05$) quando comparado ao seu respectivo grupo controle (os autores informam a significância, porém não descrevem o valor de p).

A fosforilação de p70S6K e S6 foi 2,2 e 2,6 vezes menor ($p < 0,05$), respectivamente, no grupo obeso sedentário quando comparado ao grupo controle sedentário. Além disso, no grupo obeso que realizou treinamento aeróbio, a fosforilação de p70S6K e S6 foi 1,6 e 1,9 vezes maior ($p < 0,05$), respectivamente, quando comparado ao grupo obeso sedentário (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Além disso, no grupo obeso sedentário, a fosforilação de 4E-BP1 foi 2,1 vezes menor ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo controle sedentário, e 1,4 vezes menor ($p < 0,05$) do que o grupo obeso que realizou treinamento aeróbio (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Com relação às proteínas relacionadas às vias de degradação muscular, FOXO-1 teve uma redução ($p < 0,05$) de 2,1 vezes no grupo obeso sedentário quando comparado ao grupo controle sedentário, além de um aumento ($p < 0,05$) de 1,7 vezes no grupo obeso que realizou treinamento aeróbio quando comparado ao seu respectivo grupo sedentário (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Por outro lado, a fosforilação de MAFBX foi 3,5 vezes maior ($p < 0,05$) no grupo obeso sedentário, quando comparado ao grupo controle sedentário. Além disso, o treinamento aeróbio nos animais obesos reduziu ($p < 0,05$) 2,1 vezes a fosforilação de MAFBX quando comparados aos animais obesos sedentários (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Em estudo feito por Chen e colaboradores (2013), foi utilizado 40 camundongos machos (os autores não informam o peso corporal inicial dos animais), randomizados em 4 grupos de 10 animais cada: 1) Sedentário Controle (SC); 2) Suplementado com Whey Proteins (SC+WP); 3) Treinamento Aeróbio (ET); 4) Treinamento Aeróbio e Suplementação de Whey Proteins (ET+WP).

Sendo assim, realizaram treinamento de natação os grupos ET e ET+WP por um período de 6 semanas, com frequência de 3 a 5 vezes por semana e 60 minutos de duração, com carga de 1 a 3% do peso corporal. Os grupos SC+WP e ET+WP receberam suplementação de WP via oral 30 minutos após a sessão de treinamento, com dose de $4,1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ do peso corporal.

Após isso foi feita a análise da massa corporal, massa muscular absoluta e relativa (que inclui os músculos gastrocnêmio e sóleo). A massa corporal foi significativamente menor ($p=0,0283$) no grupo ET+WP quando comparado ao grupo ET e significativamente menor ($p=0,0021$) para os animais que realizaram treinamento quando comparados aos sedentários.

Em relação a massa muscular, esta foi significativamente menor ($p=0,038$) em ET+WP quando comparado aos outros grupos. Além disso, a massa muscular relativa (%) foi menor ($p=0,0253$) em cerca de 2,9% e 3,0% em ET+WP quando comparado a SC e ET isoladamente com significância estatística, respectivamente. Nesse caso, o tipo de exercício e sua duração deve ter sido fator determinante no não aumento da massa muscular esquelética, quando comparado aos demais grupos.

3.2.6 Treinamento aeróbio em esteira

No estudo de Bae e colaboradores (2016), foram utilizados 60 ratos Sprague Dawley machos (os autores não informam a idade, e massa corporal inicial dos animais). Após uma semana de adaptação foram randomizados em dois grupos para indução à obesidade através de dieta rica em gordura: 1) grupo controle (CO) fazendo dieta normal com 12% de gordura; e 2) grupo com dieta rica em gordura (HF) com 40% de gordura, por um período de 15 semanas. Ao final, o grupo HF apresentou peso corporal maior ($p<0,05$) quando comparado ao grupo CO, (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Após este período de indução à obesidade, os grupos foram subdivididos: 1) controle (CO); 2) controle e treinamento aeróbio (COT); 3)

dieta rica em gordura (HF); 4) dieta rica em gordura e treinamento aeróbio (HFT); 5) grupo que volta a dieta normal (HFND); 6) grupo que volta a dieta normal e realiza treinamento aeróbio (HFNDT). Cada grupo, com 10 animais cada, foram submetidos a um treinamento aeróbio em esteira por um período de 8 semanas, com frequência de 5 vezes por semana, duração de 40 minutos por sessão e velocidade variando entre 5 e 22m/min.

Após o período de treinamento aeróbio os animais foram avaliados com relação ao peso corporal e fosforilação de MTOR, MTORC-1 e MTORC-2. O peso corporal após 8 semanas de treinamento aeróbio e mudança na alimentação foi menor ($p < 0,05$) em CO, CT, HFT, HFND e HFNDT quando comparados a HF, demonstrando a eficiência do treinamento aeróbio e do retorno a dieta normal na redução do peso corporal (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Em relação a fosforilação de MTOR, esta foi menor ($p < 0,05$) no grupo HF quando comparado aos demais grupos (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância). Além disso, MTOR no grupo CO foi significativamente maior quando comparado a COT ($p < 0,05$) (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

A fosforilação de MTORC-1 foi maior ($p < 0,05$) em HF quando comparado aos outros grupos (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância), sendo que foi menor ($p < 0,05$) nos grupos HFND e HFNDT quando comparados a HFT (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

O complexo MTORC2 apresentou fosforilação maior ($p < 0,05$) nos grupos CO, COT e HFNDT quando comparados a HF (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Os resultados demonstram uma contribuição negativa das dietas ricas em gordura sobre os marcadores dos mecanismos das vias síntese proteica do músculo esquelético, além de demonstrar um papel protetor do exercício aeróbio sob essas vias.

3.2.7 Treinamentos combinados

No estudo de Wang e colaboradores (2009), foram avaliados camundongos, machos, da linhagem C57BL/6J (o autor não informa a idade e massa corporal inicial dos animais). Os animais foram submetidos a doença renal crônica através de uma nefrectomia subtotal, no qual foi realizada a retirada do rim direito e excisão dos dois polos do rim esquerdo. Os animais realizaram dois tipos de treinamento, treinamento resistido e treinamento aeróbio, e em cada tipo de treinamento foram alocados 4 grupos contendo de 6 a 9 animais.

Para o treinamento resistido obtiveram os seguintes grupos: 1) Grupo controle (n=6); 2) Grupo sobrecarga muscular (n=6); 3) Grupo com doença renal crônica (n=9); 4) Doença renal crônica e sobrecarga muscular (n=9). Para o treinamento aeróbio foram divididos os seguintes grupos: 1) Grupo controle (n=6); 2) Grupo treinamento aeróbio (n=6); 3) Grupo com doença renal crônica (n=9); 4) Doença renal crônica e treinamento aeróbio (n=6).

Em relação aos animais que realizaram treinamento aeróbio, antes da nefrectomia estes realizaram treinamento em esteira com velocidade 15m/min e um aumento progressivo até alcançar a velocidade de 30m/min. Após duas semanas de treinamento os ratos foram submetidos à nefrectomia, e após uma semana de recuperação continuaram realizando treinamento aeróbio diariamente a velocidade de 30m/min durante duas semanas.

Em adição, modelo de treinamento resistido utilizado foi o de sobrecarga muscular, no qual o músculo plantar foi sobrecarregado com a retirada dos músculos gastrocnêmio e sóleo. A retirada dos músculos foi realizada após uma semana da nefrectomia. Os animais permaneceram nessa condição por duas semanas, e ao final o músculo plantar foi removido para as análises.

Após isso, foi avaliado as massas corporal e do músculo plantar, além da fosforilação de AKT, FOXO-1, MTOR e p70S6K. A massa corporal não diferiu ($p < 0,05$) entre grupos e entre tipos de estímulo. A massa do músculo plantar nos camundongos normais que realizaram treinamento em esteira ou sobrecarga muscular foram maiores ($p < 0,05$) do que quando comparados aos

grupos controles (os autores informam a significância, porém não descrevem o valor de p).

Além disso, a massa do músculo plantar nos animais com doença renal crônica submetidos a sobrecarga muscular foi 67% maior ($p < 0,05$) do que nos animais com doença renal crônica não sobrecarregados. Os animais com doença renal crônica que realizaram treinamento aeróbio na esteira não diferiram ($p < 0,05$) nos pesos do músculo plantar quando comparado ao grupo que não realizou treinamento aeróbio (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Com relação a fosforilação de AKT, foi diminuída ($p < 0,05$) nos animais induzidos à doença renal crônica, e ambos modelos de treinamento reverteram esse efeito provocando um aumento ($p < 0,05$) da fosforilação de AKT nos animais com doença crônica ao nível dos animais controle (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

A fosforilação de p70S6K aumentou ($p < 0,01$) cerca de 5 vezes nos animais com sobrecarga muscular comparados ao grupo controle, além disso animais com doença renal crônica a sobrecarga muscular aumentou ($p < 0,01$) a fosforilação de p70S6K diminuídos pela indução a doença renal crônica.

Ademais, a fosforilação de MTOR apresentou comportamento semelhante onde foi diminuída ($p < 0,05$) no músculo de camundongos com doença renal crônica e a sobrecarga muscular reverteu ($p < 0,01$) a supressão da MTOR.

Em contrapartida, o treinamento aeróbio não conseguiu reverter o decréscimo ($p < 0,05$) da fosforilação de p70S6K e MTOR provocado pela indução a doença renal crônica. A fosforilação de FOXO-1 diminuiu ($p < 0,05$) em camundongos com doença renal crônica e foi revertida em aumento ($p < 0,05$) pelos dois tipos de estímulo, tanto aeróbio quanto o de sobrecarga muscular (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Estudo feito por Furrer e colaboradores (2013) utilizou 30 ratos Wistar, fêmeas, 10 semanas de idade, e peso corporal inicial de aproximadamente 211 gramas, objetivou avaliar a resposta do treinamento de potência em fibras

musculares de alta ou baixa capacidade oxidativa, combinadas com treinamento aeróbio.

Para isso os animais foram divididos em 3 grupos: 1) controle sedentário; 2) treinamento de potência; 3) treinamento de potência mais treinamento aeróbio. O período de treinamento teve duração de 6 semanas. O treinamento de potência consistiu em 10 corridas com duração de 15 segundos em velocidade máxima e 3 minutos de recuperação entre corridas; e o protocolo de treinamento aeróbio consistiu em 10 a 45 minutos de duração, com 0 a 10% inclinação e 16- 26m/min de velocidade.

O grupo que realizou o combinado dos dois tipos de treinamento, realizou o treino de potência e posterior treino aeróbio, com 8 horas de intervalo entre estímulos.

Foram avaliados a massa corporal, massa do músculo gastrocnêmio e expressão de MURF-1 e MAFBX. A massa do músculo gastrocnêmio ao final do período de treinamento apresentou tendência de aumento ($p=0,065$) cerca de 8% da massa total maior no grupo que realizou treinamento de potência quando comparado ao controle.

Além disso, nas fibras de maior capacidade oxidativa a expressão de MURF-1 foi maior ($p=0,045$) no grupo treinamento de potência, quando comparado ao grupo que realizou treinamento aeróbio adicional.

Já nas fibras de baixa capacidade oxidativa, a expressão de MURF-1 continuou maior ($p=0,010$) no grupo treinamento de potência, quando comparado ao grupo que realizou treinamento aeróbio adicional.

A expressão de MAFBX não apresentou diferenças ($p<0,05$) quando realizada a comparação entre grupos ou entre tipos de fibras (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

A realização de um treinamento aeróbio nesse desenho de estudo, contribuiu para a diminuição ($p<0,05$) da expressão de MURF-1 provocada por treinamento de potência, porém não foi suficiente para aumentar ($p<0,05$) a hipertrofia muscular (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

O estudo de Liu e colaboradores (2013) utilizou 30 camundongos C57BL/6, machos, 4 semanas de idade (os autores não informam a massa corporal inicial dos animais). O estudo objetivou determinar os mecanismos pelo quais o treinamento aeróbio promove diminuição da resistência à insulina promovida por lipídios, além de verificar a função de AMPK/MTOR na mediação dessa resposta no músculo esquelético.

Os camundongos foram divididos em 2 grupos inicialmente: 1) controle (n=10); 2) dieta rica em gordura (n=20), durante 10 semanas. Na sexta semana, os camundongos do grupo dieta rica em gordura permaneceram com a mesma dieta, porém foi randomizado em outros 2 grupos: 1) dieta rica em gordura controle; e 2) dieta rica e gordura treinamento aeróbio.

O protocolo do grupo treinamento aeróbio consistiu em esteira rolante, frequência semanal de 5 vezes por semana e intensidade inicialmente 50% do VO_2 máximo e duração de 20 minutos, e nas semanas subsequentes 75% VO_2 máximo e duração 60 minutos.

Foram avaliados a massa corporal, e fosforilação de AKT, AMPK e S6K. A massa corporal aumentou ($p < 0,05$) no grupo da dieta rica em gordura ao final de 6 semanas, mas foi revertido pelo treinamento aeróbio (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

A expressão de AKT foi menor ($p < 0,05$) no grupo com dieta rica em gordura, mas a realização de treinamento aeróbio por 6 semanas promoveu aumento ($p < 0,05$) de sua atividade (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Além disso, a fosforilação de AMPK foi aumentada ($p < 0,05$) no grupo de alto consumo de gordura, entretanto esse efeito foi revertido pelo treinamento (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Ademais, o treinamento aeróbio interferiu bloqueando o aumento ($p < 0,05$) da expressão de S6K provocado pela dieta rica em gordura sobre a expressão de S6K. O aumento ($p < 0,05$) de S6K no músculo foi de aproximadamente 30% provocado pela dieta rica em gordura, porém foi

normalizado pelo treinamento aeróbio (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

No estudo de Nunes e colaboradores (2013), foram avaliados 32 ratos Wistar machos, 90 dias de idade (os autores não informam a massa corporal inicial), divididos em quatro grupos: Treinamento mais Suplementação de Whey Proteins (TRW); Sedentário mais Suplementação de Whey Proteins (SEDW); Treinamento (TR); e Sedentário (SED).

Estes animais foram submetidos à um protocolo de treinamento resistido por 8 semanas, com frequência de 4 vezes semanais, em aparato de agachamento com estimulação elétrica de baixa intensidade (4-5mA com 0,3 segundos de duração e 3 segundos de intervalo entre cada repetição).

Após um período de adaptação e teste de uma repetição máxima (RM), os animais realizaram sessões com 4 séries de 10 a 12 repetições com carga de 65% a 75% de 1 RM e 90 segundos de pausa entre séries.

Além disso, os grupos suplementados receberam dose de 1,8g.kg⁻¹ de Whey Proteins diluídos em água destilada por gavagem imediatamente após a sessão de treinamento resistido.

A massa corporal não demonstrou diferenças entre grupos, apresentando $p > 0,05$), entretanto, os valores para o teste de 1RM para os grupos que realizaram treinamento resistido foram maiores em comparação aos grupos sedentários ($p < 0,05$) mas não diferiu na condição de suplementação (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Estudo feito por Ogasawara e colaboradores (2014), utilizaram 10 animais Sprague Dawley machos (os autores não informam a idade, e massa corporal inicial dos animais), randomizados em dois grupos: 1) 1 sessão de treinamento resistido; 2) 18 sessões de treinamento resistido. A sessão de treinamento resistido consistia em modelo de estimulação elétrica com 5 séries de 5 contrações com duração de 5 segundos cada e intervalo de 5 minutos entre séries, realizado no músculo gastrocnêmio direito com uma voltagem de aproximadamente 30V e frequência de 60Hz, ajustado para a máxima

contração isométrica, e o músculo gastrocnêmio esquerdo foi utilizado como controle interno.

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do treinamento resistido sobre a atividade de MMP-2 e MMP-9 que são enzimas proteolíticas dependentes de cálcio e zinco, responsáveis pela matrix extracelular. Além disso, as MMPs em concentração elevada podem ativar positivamente a via AKT/MTOR proporcionando hipertrofia, entretanto, em concentrações menores potencializam o processo de atrofia.

Após o período de treinamento resistido, foram avaliados o percentual de miosina de cadeia pesada, além da atividade de MMP-2 e MMP-9. Dezoito sessões de treinamento resistido provocaram aumento ($p < 0,05$) de aproximadamente 10% no percentual de fibras do tipo IIx e IIb quando comparados ao grupo que realizou apenas uma sessão (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

A atividade de MMP-2 e MMP-9 teve aumento ($p < 0,05$) com apenas uma sessão de treinamento resistido, além da atividade de MMP-9. Além disso, a atividade de MMP-9 teve aumento ($p < 0,05$) semelhante com 18 sessões, porém várias sessões de estímulo amortizaram a atividade de MMP-2 (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Com o objetivo de avaliar as repostas do músculo esquelético ao treinamento resistido e treinamento aeróbio em um modelo experimental de caquexia induzida por câncer, Khamoui e colaboradores (2016) utilizaram 49 camundongos *Balb/c mice* fêmeas, distribuídos em 3 grupos: 1) Controle; 2) Treinamento Resistido (TR); 3) Treinamento aeróbio (TA).

Desta forma, os animais realizaram treinamento resistido com duração de 8 semanas, com frequência de 3 vezes por semana, em modelo de subida em escada para o grupo TR, com carga inicial de 50% da massa corporal e aumento semanal de 10% com 5 séries de 3 repetições e 1 a 2 minutos de intervalo entre séries. O grupo TA realizou treinamento resistido de 5 vezes por semana, com duração de 60 minutos por sessão em esteira ergométrica a uma velocidade média de 6,5m/min.

Após o período de 8 semanas, metade dos animais de cada grupo foram inoculados com célula tumoral (colon-26 ou C26) para induzir caquexia e seguiram mais 3 semanas de treinamento. A distribuição dos grupos ao final ficou da seguinte forma: Controle, C26, TA, TA+C26, TR e TR+C26. Foram avaliados composição corporal, massa muscular de gastrocnêmio e músculo plantar, além da expressão gênica de MAFBx, MURF-1, AKT e MTOR.

Com relação à composição corporal, os camundongos C26 sofreram declínio significativo de 8% na massa corporal ($p=0,006$) e também de forma significativa de 33% na massa gorda ($p=0,002$) quando comparados ao controle. Os camundongos de TA e TR tiveram perdas significativas ($p=0,003$) com relação ao tempo sobre a massa corporal, diminuindo 6% em TA e 3% em TR ($p=0,02$), além disso TA apresentou queda de 10% na massa gorda ($p=0,002$).

Com relação à comparação entre C26, TA+C26 e TR+C26, ao longo do tempo C26 apresentou perda de 8% ($p=0,006$), 18% em TA+C26 ($p=0,001$) e 15% em TR+C26 ($p=0,01$), quando comparados ao grupo controle.

Após o treinamento resistido, os grupos TA+C26 e TR+C26 apresentaram perdas significativas de 13% e 14% na massa corporal ($p=0,001$). A massa de gordura apresentou perdas significativas em todos os grupos no decorrer do tempo (C26: -33%, ($p=0,002$); TA + C26: -40%, ($p=0,016$); TR + C26: -40 %, ($p=0,007$), com exceção do grupo controle ($p>0,05$) (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Além disso, não foi verificada nenhuma diferença ($p>0,05$) para os valores de massa magra (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância), quando comparados ao controle, C26 apresentou perda ($p<0,05$) na massa do gastrocnêmio e plantar (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Entre controle, TR e TA não houveram diferenças ($p<0,05$) (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância) na massa muscular do gastrocnêmio (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância). Porém o músculo plantar foi significativamente maior ($p<0,05$)

em TR quando comparado ao controle e TA (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Com relação aos mecanismos de sinalização de síntese proteica no musculo esquelético, não houve diferença ($p < 0,05$) na expressão gênica das E3 ligases MURF-1, MAFBX e também AKT e MTOR em C26 quando comparados ao controle (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

O grupo TA+C26 apresentou alteração significativa ($p = 0,02$) em valores 32% maiores para MTOR fosforilado quando comparado a C26.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL

Verificar o efeito da suplementação de 2, 4 e 6 g/kg/dia doses de *Whey Proteins* associadas ao treinamento resistido de 12 semanas na expressão gênica em vias de síntese e degradação proteica do músculo esquelético de ratos machos Wistar.

4.2 ESPECÍFICOS

Verificar a expressão gênica de MTOR mRNA após treinamento resistido de 12 semanas com e sem suplementação de 2, 4 e 6g/kg/dia de *Whey Proteins*;

Verificar a expressão gênica de MAFBX mRNA após treinamento resistido de 12 semanas com e sem suplementação de 2, 4 e 6g/kg/dia de *Whey Proteins*;

Verificar a expressão gênica de MURF-1 mRNA após treinamento resistido de 12 semanas com e sem suplementação de 2, 4 e 6g/kg/dia de *Whey Proteins*.

5 HIPÓTESES

5.1 HIPÓTESE 1

A expressão gênica de proteínas associadas à síntese e degradação proteica apresenta dose dependente a quantidade de *whey proteins* associada ao treinamento resistido.

5.2 HIPÓTESE NULA

A expressão gênica de proteínas associadas à síntese e degradação proteica não apresenta diferença em sua resposta às diferentes doses de *whey proteins* associadas ao treinamento resistido.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 ASPECTOS ÉTICOS

Os ensaios biológicos foram de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA, 2012) e o projeto de pesquisa tem aprovação da Comissão de Ética e Pesquisa no Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão (CEUA/UFMA), sob registro nº 23115.011090/2016-48 (Anexo 1).

6.2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura seguiu o modelo de revisão sistemática. Para isso, utilizou-se os conceitos de revisão propostos por Thomas, Nelson e Silverman, (2012), e a busca seguiu procedimentos propostos por Navarro e Navarro, (2012).

Além disso, essa revisão foi baseada nas publicações constantes nas seguintes bases de dados e apresentamos os seus respectivos endereços eletrônicos: o portal Periódicos Capes (www.periodicos.capes.gov.br); Biblioteca da Bireme: Medline e Lilacs (bvsalud.org); PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>); Scielo.org (<http://scielo.org>); Scielo.br (<http://scielo.br/>); Redib (<http://redib.org>); Dialnet (<https://dialnet.unirioja.es/>), e como critério de avaliação da qualidade técnica e científica dos textos foi utilizado a escala proposta por Galna e colaboradores (2009).

Foram utilizados os seguintes termos de busca: Treinamento de Força; Treinamento Resistido; Treinamento Anaeróbio; Whey Proteins; MTOR; MURF-1; MAFBX, verificados nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS).

A partir disso, se obteve um total de 754 estudos, nos quais aplicaram-se os critérios de inclusão: ter acesso por meio eletrônico, acesso livre, texto completo disponível, escrito em português e/ou inglês e que, ao ser avaliado pela escala de Galna, conseguisse pontuação igual ou superior a 8,0; e foram excluídos desta revisão textos de teses, dissertações, editoriais, textos de jornal e artigos repetidos encontrados em bases diferentes, revisões

sistemáticas, estudos em culturas de células, estudos em humanos, estudos em animais (exceto ratos e camundongos), estudos que não avaliaram a expressão gênica e apresentaram índice igual ou inferior a 7,9 na escala de Galna.

Desse modo, do total de 754 artigos analisados, e nesse sentido excluiu-se 730 documentos, e dessa forma restaram 24 artigos, conforme fluxograma, onde seus objetivos, métodos e principais resultados estão descritos a seguir.

Fluxograma da revisão sistemática

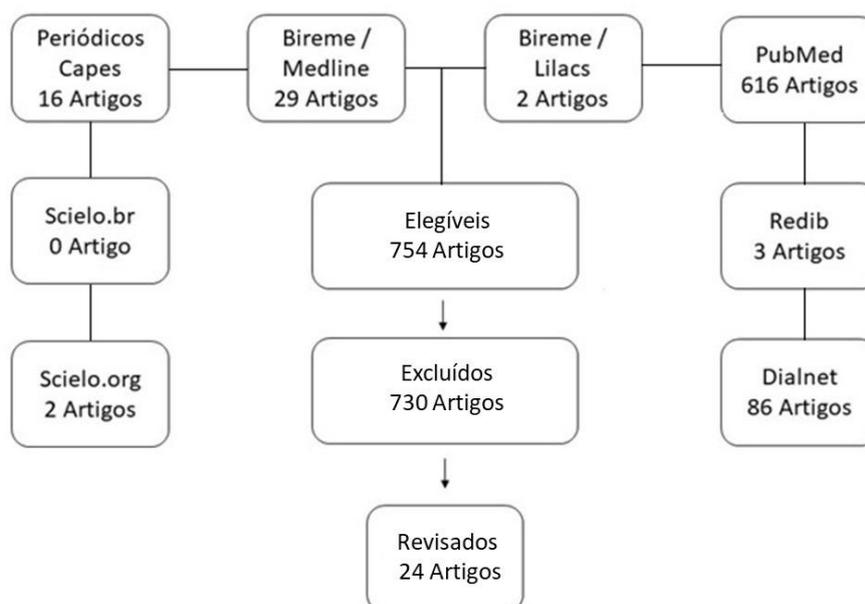


Figura 9 - Fluxograma da revisão sistemática

6.3 DESENHO E DELINEAMENTO DO ESTUDO



Figura 10: Organização temporal do protocolo experimental

Trata-se de um estudo do tipo experimental em um ensaio pré-clínico controlado e randomizado, com duração de 12 semanas, onde ratos da linhagem Wistar foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos com quantidade inicial de 10 animais cada.

- Grupo Controle (C): tratado com água pelo método gavagem;
- Grupo controle treinamento (TC): Treinamento resistido;
- Grupo suplementado 2g (W2): suplementado com 2g/kg/dia de *whey proteins* pelo método de gavagem;
- Grupo suplementado 4g (W4): suplementado com 4g/kg/dia de *whey proteins* pelo método de gavagem;
- Grupo suplementado 6g (W6): suplementado com 6g/kg/dia de *whey proteins* pelo método de gavagem;
- Grupo treinamento e suplementado 2g (TW2): treinamento resistido e suplementado com 2g/kg/dia de *whey proteins* pelo método de gavagem;
- Grupo treinamento e suplementado 4g (TW4): treinamento resistido e suplementado com 4g/kg/dia de *whey proteins* pelo método de gavagem;
- Grupo treinamento e suplementado 6g (TW6): treinamento resistido e suplementado com 6g/kg/dia de *whey proteins* pelo método de gavagem.

6.4 PERÍODO E LOCAL DE ESTUDO

O presente estudo teve duração total de quatorze semanas e ocorreu no interior do biotério setorial do prédio do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde junto ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto localizado na Cidade Universitária Dom Delgado, no Campus Bacanga, da Universidade Federal do Maranhão - UFMA.

6.5 AMOSTRA/AMOSTRAGEM

O estudo foi realizado com 60 *Rattus norvegicus* machos da linhagem Wistar com idade inicial de 60 dias e massa corporal de 250 a 350 g, procedentes do Biotério da Universidade Federal do Maranhão – UFMA. Os animais permaneceram sob condições higiênicas em gaiolas coletivas (dimensões 41x34x16cm), em grupos de 5 animais por gaiola, mantidos em

uma sala climatizada com controle de temperatura entre 24°C a 28°C, e sob ciclo alternado de claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram alimentados com ração balanceada padrão para roedores (NuvilabCR-1®) e água *ad libidum*, na qual o quadro 1 descreve a composição nutricional da ração.

Quadro 1: Composição Nutricional da Ração para Animais de Laboratório Nuvilab CR-1.

| Informação Nutricional | |
|---------------------------------|----------------|
| Quantidade por porção (1 quilo) | |
| Nutriente | Referência/Kg |
| Umidade | 120 gramas |
| Proteína Bruta | 220 gramas |
| Extrato Etéreo | 40 gramas |
| Carboidrato | 600 gramas |
| Material Mineral | 90 gramas |
| Fibra Bruta | 70 gramas |
| Cálcio | 10 a 14 gramas |
| Fósforo | 8 gramas |
| Energia bruta | 3800kcal/kg |

6.6 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

6.6.1 Controle da massa corporal

A massa corporal foi medida sempre no início de cada semana para registro semanal e ajuste das doses de *whey proteins* e nos dias de teste de peso máximo carregado, para cálculo da carga da primeira subida no teste. Para isso, os animais foram colocados em contensor e a medida foi realizada em balança semi analítica (Marca Weblaborsp®, modelo 5,200 gramas, São Paulo, Brasil) com precisão de 0,1g.

6.6.2 Suplementação/ Gavagem

A suplementação de *whey proteins* foi administrada através do método gavagem (Figura 11), que consiste na introdução lentamente de uma agulha na cavidade oral, através da boca e da faringe para o esôfago. A agulha é do tipo ponta-bola para evitar o risco de lesão ao esôfago, sendo necessária a contenção do animal de modo que mantenha a sua cabeça imobilizada (Neves, Mancini Filho, Menezes, 2013).

A gavagem foi realizada diariamente durante 12 semanas de estudo, e os animais passaram por 3 sessões de adaptação à gavagem antes do início do protocolo experimental. A dose diária de *Whey proteins* foi dividida em 3 gavagens de 5 mL cada, com intervalo de 60 minutos entre gavagens, em todos os grupos. Nos grupos suplementados cada gavagem continha a dosagem específica e os grupos controle e treinamento controle receberam o mesmo volume com água. O peso dos animais foi avaliado semanalmente para readequação da quantidade da suplementação.



Figura 11: Gavagem em Rato.

A suplementação com *whey proteins* seguiu as dosagens 2, 4 e 6 g/kg/dia dissolvido em água filtrada, tendo concentração comum de 0,322g/mL do Suplemento (H.I Whey: Essencial Nutrition®), que corresponde a 0,284g/mL de proteínas do soro do leite. A medida do whey para preparação da solução padrão foi realizada em balança analítica (AD200, Marte científica, São Paulo Brasil) com precisão de 0,001g. A composição nutricional e o aminograma (H.I Whey: Essencial Nutrition®) estão descritos nos quadros 2 e 3, respectivamente.

Quadro 2: Composição Nutricional da Proteína do Soro do Leite H.I Whey Protein.

| Informação Nutricional | | |
|-----------------------------------|------------------|-------------------------|
| Quantidade por porção (25 gramas) | | |
| Nutriente | Gramatura | Valor diário (%) |
| Carboidratos | 0 gramas | 0% |
| Proteínas | 22 gramas | 29% |
| Gorduras totais | 0 gramas | 0% |
| Fibra alimentar | 0 gramas | 0% |
| Sódio | 79 miligramas | 3% |
| Cálcio | 118 miligramas | 12% |
| Fósforo | 63 miligramas | 9% |
| Magnésio | 22 miligramas | 8% |

Quadro 3: Aminograma da Proteína do Soro do Leite H.I Whey Protein.

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

6.6.3 Controle do consumo de Ração

O consumo de ração foi controlado diariamente, sendo realizado sempre antes do protocolo experimental. Foi padronizada a quantidade de 300g para cada caixa. Para isso, foi utilizada balança semi analítica (Modelo ES220, Weblabor, São Paulo, Brasil) com precisão de 0,1g.

6.6.4 Treinamento resistido

6.6.4.1 Protocolo de adaptação ao treinamento

Os ratos foram gradualmente adaptados para o ato de escalar com equipamento de carga preso na cauda sem adição de carga por 3 dias não consecutivos (Intervalo de 48 horas entre sessões), que foi realizado em uma escada vertical (110 cm de altura, 18 cm de largura, grade com espaçamento de 2cm entre os degraus e inclinação de 80°, com caixa de 20x20x20 cm no topo da escada). Este modelo (figura 12) de treinamento resistido é proposto por Hornberger, Farar (2004).



Figura 12: Escada para realização de treinamento resistido.

6.6.4.2 Teste de carga máxima (TCM)

Dois dias após o procedimento de familiarização, foi executado o Teste de Carga Máxima para todos os ratos dos grupos de treinamento. Para a subida inicial, o peso carregado foi de 75% da massa corporal do rato. Em seguida, foi adicionada uma carga de 30 gramas com um período de descanso

de 120 segundos entre cada subida, até atingir a carga máxima que foi quando o rato não conseguiu mais subir toda a extensão da escada entre 4-9 tentativas. A falha foi definida quando o rato não conseguiu continuar a subir a escada após 3 estímulos consecutivos na cauda (com o uso de pinças). A maior carga que o rato conseguiu suportar por toda a extensão da escada foi considerada o Peso Máximo Carregado (PMC) para aquela sessão de teste (Hornberger, Farrar, 2004; Krug e colaboradores, 2016).

Este procedimento foi aplicado a cada duas semanas, durante as 12 semanas de treinamento nos grupos TC, TW2, TW4 e TW6, a fim de determinar a intensidade de treinamento e acompanhar as adaptações da força muscular.

6.6.4.3 Protocolo de treinamento resistido

Após o teste de carga máxima (TCM), se deu início ao programa de treinamento resistido, que teve frequência de três vezes semanais, em dias alternados (segundas, quartas e sextas) durante 12 semanas. Cada sessão consistiu em 4 subidas na escada com 50%, 75%, 90% e 100% do peso máximo carregado, respectivamente, sendo o protocolo de exercício, adaptado de Hornberger, Farrar, (2004).

6.6.5 Eutanásia

Vinte e quatro horas após os procedimentos experimentais finais e com doze horas de privação de alimentos, os ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal de Xilasina (70mg/kg de massa corporal) e Ketamina (10mg/kg de massa corporal), conforme sugerido por Krug e colaboradores, 2016; Macedo e colaboradores, 2014 e posterior decaptação.

Após a retirada do material biológico a ser utilizado para as análises, as carcaças foram embaladas em saco plástico, devidamente lacradas e encaminhadas ao biotério central da Universidade Federal do Maranhão para procedimento de incineração. Todos os procedimentos foram executados seguindo as recomendações do (SBCAL/COBEA, 2012).

6.6.6 Extração do músculo e armazenamento

A obtenção do tecido muscular seguiu a recomendação de Xia e colaboradores (2016) e Hornberger e Farrar (2004), dessa forma foram retirados os músculos flexores longos do halux (FHL), gastrocnêmio e sóleo. Os músculos gastrocnêmio, sóleo e FHL da pata esquerda do animal foram embebidos em formaldeído a 10% por 24 horas e posteriormente em álcool etílico por 7 dias para posterior análise histológica. A porção superficial (branca) de músculo gastrocnêmico e o FHL da pata direita foram submersas em solução estabilizadora de RNA (Invitrogen™: RNAlater™), em seguida armazenados a -80°C para posterior análise em *Polymerase Chain Reaction - Real Time* (PCR-RT).

6.6.7 Expressão Gênica de MTOR, MURF-1 e MAFBx

6.6.7.1 Extração de RNA

Para a extração da molécula do Ácido Ribonucleico total do material biológico, utilizou-se o Kit ReliaPrep™ RNA Tissue Miniprep System da Promega®, seguindo o seguinte protocolo:

- 1) Após a retirada do tecido da refrigeração a -80°C, as amostras de trabalho foram cortadas, pesadas (20 mg) e armazenadas em um tubo estéril;
- 2) Para cada amostra foram adicionados 500 µl da solução de tampão LBA e TG Buffer, acrescidos de 500 µl do tampão de extração de RNA (RDB), em seguida, incubou-se por um 1 minuto a temperatura ambiente;
- 3) Após a incubação, utilizou-se um homogeneizador de tecidos para facilitar a reação. Em seguida, o material foi centrifugado por 3 minutos a 10.000 rpm para a retirada dos debris insolúveis;

- 4) Após esse processo, o lisado foi transferido para um novo tubo estéril, tomando cuidado para que não fosse transferido nenhum debri. Em seguida, foram adicionados 340 µl de isopropanol;
- 5) Em seguida, preparou-se o conjunto de 1 coluna (ReliaPrep™ Minicolumn), 2 tubos coletores e 1 tubo de eluição para cada amostra. Em sequência, foram adicionados até 700 µl do lisado para a ReliaPrep™ Minicolumn e centrifugou-se por 1 minuto a 12.000 rpm. Repetiu-se essa etapa em função do volume do lisado, descartando-se o volume residual entre cada etapa;
- 6) Após esse processo, foram adicionados 500 µl de RNA Wash Solution a ReliaPrep™ Minicolumn e centrifugou-se por 30 segundos a 12.000 rpm, em seguida descartou-se o volume residual e armazenou-se a ReliaPrep™ Minicolumn em um rack refrigerado;
- 7) Em sequência, preparou-se o mix de incubação de DNase I, ao combinar-se, nessa ordem, 24 µl do Buffer de núcleo amarelo, 3 µl de Cloreto de Manganês (MnCl₂) a 0,09 Molar e 3 µl enzima DNase I para cada reação. Em seguida, foram aplicados 30 µl do mix diretamente à membrana da ReliaPrep™ Minicolumn e incubou-se por 15 minutos a temperatura ambiente;
- 8) Após a incubação, foram adicionados 200 µl da Column Wash Solution a ReliaPrep™ Minicolumn e centrifugou-se por 15 segundos a 12.000 rpm. Em seguida, foram adicionados 500 µl de RNA Wash Solution a ReliaPrep™ Minicolumn e centrifugou-se por 30 segundos a 12.000 rpm. Ao final desse processo, descartou-se o tubo coletor e colocou-se a ReliaPrep™ Minicolumn em um novo tubo coletor;
- 9) Em sequência, adicionou-se 300 µl de RNA Wash Solution a ReliaPrep™ Minicolumn e centrifugou-se por 2 minutos a 12.000 rpm;
- 10) Após essa etapa, descartou-se o tubo coletor e encaixou-se a ReliaPrep™ Minicolumn em um tubo de eluição. Em seguida, adicionou-se 30 µl de Nuclease Free Water a ReliaPrep™ Minicolumn e centrifugou-se por 1 minutos 12.000 rpm;
- 11) Por fim, descartou-se a ReliaPrep™ Minicolumn, tampou-se o tubo de eluição contendo o RNA purificado e armazenou-se em refrigeração a -

80°C para posterior conversão em Ácido Desoxirribonucleico Complementar.

6.6.7.2 Transcritase reversa

Para a reação de transcriptase reversa utilizou-se o Kit SuperScript® IV First-Strand Synthesis System da Thermo Fisher Scientific®, seguindo o seguinte protocolo:

- 1) Inicialmente, o tampão 5x SSIV Buffer foi pré-aquecido a temperatura ambiente e reservado para utilização posterior;
- 2) Em seguida, preparou-se o mix de anelamento, ao combinar-se, nessa ordem, 1 µl de Random hexamers, 1 µl de dNTP mix a 10 mM, 13 µl de DEPC – água tratada e 11 µl de RNA purificado para cada amostra;
- 3) Após essa etapa, aqueceu-se o mix por 5 minutos a 65°C e, em seguida, incubou-se no gelo por pelo menos 1 minuto;
- 4) Em seguida, preparou-se o mix de transcrição reversa, ao combinar-se, nessa ordem, 4 µl do tampão 5x SSIV Buffer, 1 µl de DTT a 100 mM, 1 µl de inibidor de ribonuclease e 1 µl da SuperScript™ IV Reverse Transcriptase (200 U/µl) para cada amostra;
- 5) Após essa etapa, adicionou-se 7 µl do mix de transcrição reversa para cada amostra ao mix de anelamento, em incubou-se a reação por 10 minutos a 23°C, por 10 minutos a 55°C e por 10 minutos a 80°C. Em seguida armazenou-se o Ácido Desoxirribonucleico Complementar em refrigeração a -20°C.

6.6.7.3 Reação de Cadeia de Polimerase em tempo real (PCR-RT)

Para a Reação de Cadeia de Polimerase em tempo real, utilizou-se o Kit Power SYBR Green Master Mix da Thermo Fisher Scientific®, seguindo o seguinte protocolo:

- 1) Inicialmente, para a reação de cadeia de polimerase, preparou-se o mix Power Syber Green, ao combinar-se, nessa ordem, 6 μ l de Power Syber Green, 0,4 μ l do primer F, 0,4 μ l do primer R e 4,5 μ l de água ultrapura para cada gene alvo;
- 2) Após essa etapa, homogeneizou-se e distribuiu-se 11 μ l do mix em cada poço da placa, de acordo com o número de reações;
- 3) Em seguida, acrescentou-se 1 μ l de Ácido Desoxirribonucleico Complementar das amostras em cada poço da placa e, após esse processo, vedou-se a placa. Em ocasiões onde houve formação de bolhas na placa, utilizou-se o spin. Após preparação prévia, colocou-se a placa no aparelho StepOne e iniciou-se a reação;
- 4) Utilizou-se a seguinte ciclagem: 95°C por 15 minutos, seguido de 40 ciclos de 94°C a 15 segundos, 55°C a 30 segundos e 72°C a 30 segundos.

A Reação em Cadeia de Polimerase em tempo real foi realizada no Sistema de Detecção de Sequência StepOne para os seguintes *primers*:

- MTOR rato *forward*, 5'- CAGGACGAGCGAGTGAT -3', e *reverse*, 5'- CGAGTTGGTGGACAGAGG -3';
- MURF-1 rato *forward*, 5'- AGTCGCAGTTTCGAAGCAAT -3', e *reverse*, 5'- AACGACCTCCAGACATGGAC -3';
- MAFBx rato *forward*, 5'- CTACGATGTTGCAGCCAAGA -3', e *reverse*, 5'- GGCAGTCGAGAAGTCCAGTC -3';
- GAPDH rato *forward*, 5'- ACGGCAAGTTCAACGGCACAGTCAA -3', e *reverse*, 5'- GCTTTCCAGAGGGGCCATCCACA -3'.

Os *primers* foram obtidos a partir de sequências gênicas de *Rattus Novergicus* depositadas no GenBank, a similaridade foi calculada usando o programa BLAST Prime - <http://ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> - e todas as amostras foram realizadas em duplicata. O GAPDH foi utilizado como controle endógeno.

Os valores do *cicle treshould* (CT) foram calculados para cada gene, e os valores de Δ Ct (CT do gene alvo menos CT do gene controle GAPDH) foram calculados para cada grupo. Adicionalmente, os valores de $\Delta\Delta$ CT (Δ Ct

do grupo de amostra menos ΔC_t do grupo de controle) foram calculados, a amplificação de mRNA foi determinada como $2^{-\Delta\Delta C_t}$, e os resultados expressos como porcentagem do controle (Haraguchi e colaboradores, 2015).

6.6.8 Análises Histológicas

Os procedimentos histológicos foram realizados de acordo com trabalho de Caputo, Gitirana e Manso (2010) e descritos a seguir.

Para a fixação, o músculo gastrocnêmio foi embebido em formaldeído a 10% por 24 horas e posteriormente em álcool etílico por 7 dias.

Em seguida, o músculo foi secado com papel filtro e, com auxílio de um paquímetro científico da marca Messen®, com graduação de 0,01 mm, com amplitude entre 0 a 150 mm, realizou-se a mensuração de uma extremidade a outra e realizou-se uma secção transversal no ponto médio, em seguida realizaram-se duas secções transversais de 2-3mm, um a esquerda e outro a direita.

Após realizados os procedimentos de corte e mensuração do músculo gastrocnêmio, as amostras foram armazenadas em cassetes histológicos e identificadas. Seu processamento foi realizado no processador automático de tecidos para histologia da marca Luptec, iniciando com a desidratação com álcool etílico em concentrações crescentes, variando de álcool 70% a absoluto, seguido de clarificação com xilol e posterior impregnação em parafina.

Em seguida foram realizados cortes de 4 μ m de espessura em microtomo rotativo de parafina da marca YIDI. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina e montados para posterior análise histológica e descrição e avaliação da dimensão das fibras musculares.

A mensuração das células musculares foi realizada conforme o preconizado por Bodine e colabores (2012) e ilustrada na Figura 12, onde foram analisadas e mensuradas 150 células para cada amostra, com o auxílio de microscópio óptico biológico trinocular da marca ANATOMIC, no aumento

de 40 vezes, obtendo-se a área celular em micrômetros quadrados (μm^2). As imagens foram analisadas usando o programa AxioVision, versão 4.9.1.

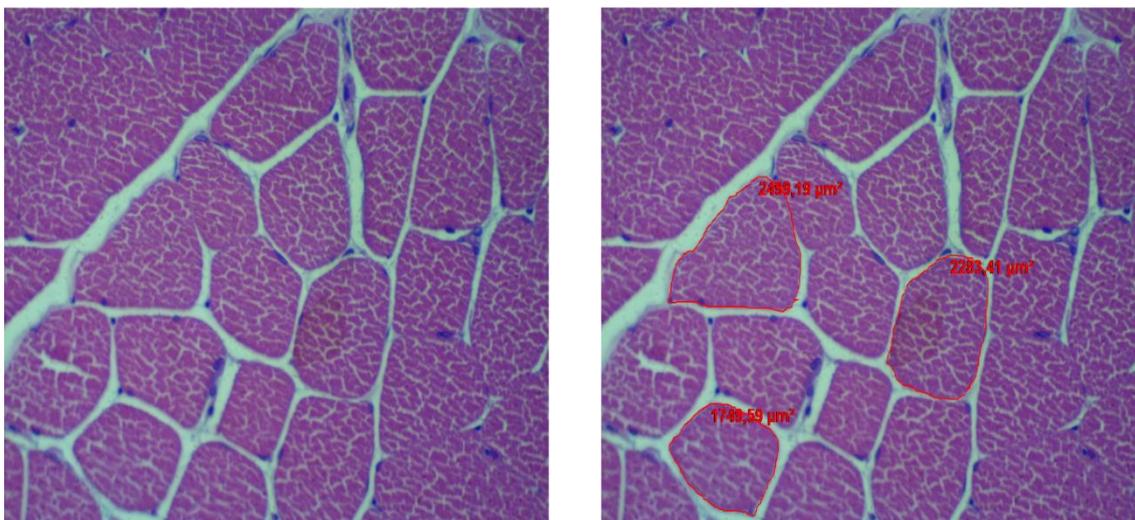


Figura 13: Mensuração de área celular do músculo gastrocnêmio.

6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis foram testadas quanto a sua distribuição através do teste de *Shapiro-Wilk*. Os dados estão apresentados em média e desvio padrão, porcentagem e expressão relativa. Para a comparação semanal da massa corporal absoluta, delta de variação da massa corporal, consumo de ração, consumo de proteína e peso máximo carregado foi utilizado teste ANOVA para medidas repetidas. Para avaliação da massa do músculo gastrocnêmio e a expressão gênica foi utilizado teste ANOVA *one-way* e o *post-hoc* de Tukey foi utilizado para determinar as diferenças estatísticas entre todas as análises e nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. O *software* utilizado para as análises estatísticas foi o *Graphpad Prism versão 7.04*.

7 RESULTADOS

7.1 CONSUMO DE RAÇÃO E PROTEÍNA

O consumo de ração acompanhado diariamente em todos os grupos está representado no Quadro 4 (anexo 2) e Figura 14. O grupo C apresenta aumento constante até a semana 7 onde é representado um pico no consumo de ração, apresentando diferença significativa com a semana 1 ($p=0,0081$), nas semanas 11 e 12 o consumo volta aos valores iniciais apresentando diferença significativa na semana 7 ($p=0,0221$ e $0,0057$ respectivamente).

Já nos grupos W4, W6, TW2, TW4 e TW6 o comportamento do consumo de ração é de diminuição, sendo que no grupo W4 essa diminuição é significativa na semana 7 ($p=0,0424$ comparado a semana 5) e na semana 10 o consumo é aproximadamente 10% menor ($p=0,006$ comparado a semana 1).

No grupo W6 a semana 10 apresenta um consumo de aproximadamente 13% menor do que a semana 1 ($p=0,0092$).

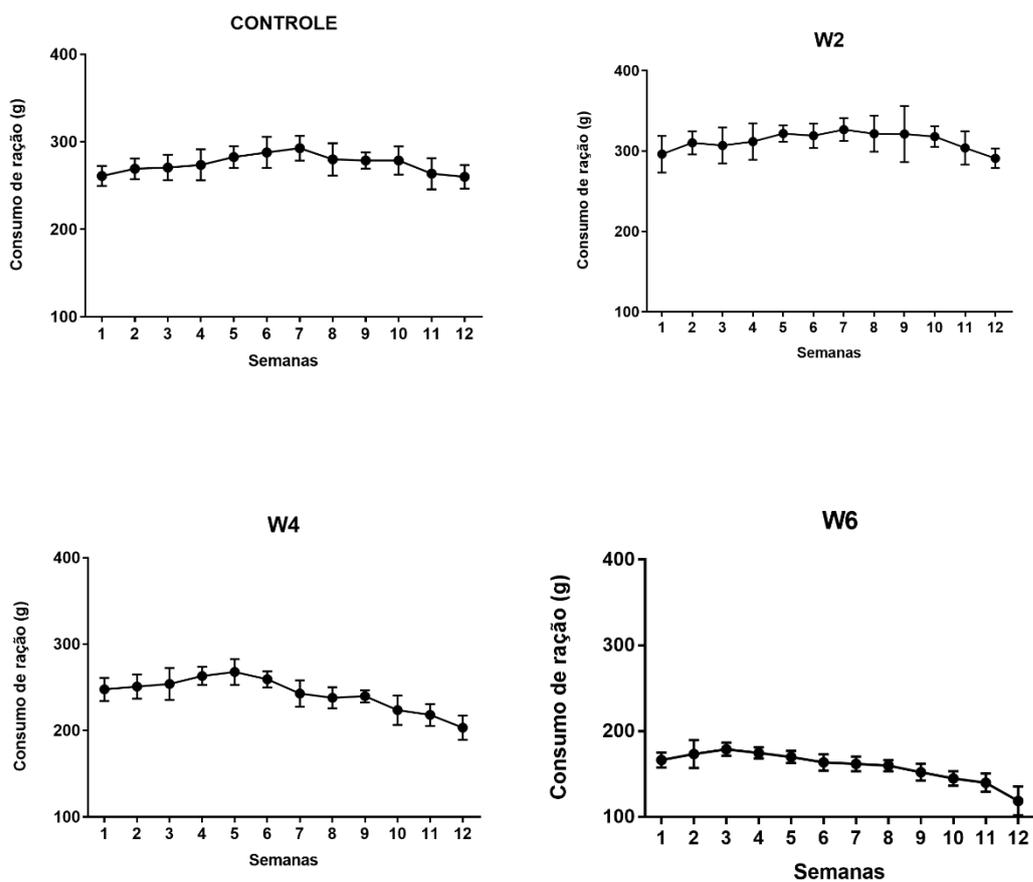
No grupo TW2 o consumo se mantém constante até a semana 4, a partir da semana 5 o consumo é menor apenas em comparação a semana 3 ($p=0,0392$).

No grupo TW4 e TW6 a semana 7 apresenta consumo de 10% e 13 %, respectivamente, menor em comparação à semana 1 ($p=0,0334$ e $0,0144$, respectivamente).

Os grupos W2 e TC apresentaram consumo constante no decorrer do período experimental, além disso, todas as outras comparações entre grupos apresentaram diferença estatística ($p<0,0001$). Não houve diferença estatística significativa entre TW2, TW4 e TW6, apenas entre TC e TW2 ($p=0,3075$).

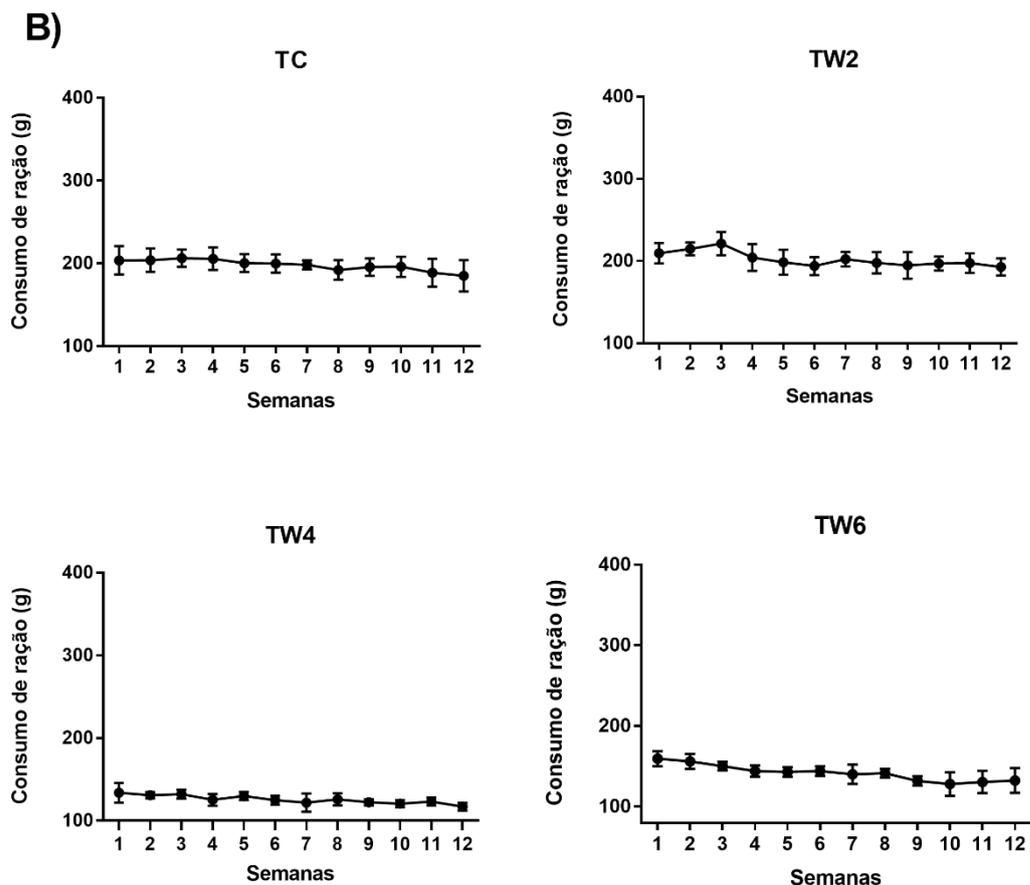
O conteúdo de proteína da ração é equivalente a 22% do total, sendo assim, o consumo de proteína a partir da ração apresentou o comportamento semelhante ao consumo total de ração, apresentando significância estatística ($p<0,05$) conforme apresentado no quadro 3.

a)



Legenda: Dados apresentados em média e desvio padrão; C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey protein 6g/kg/dia.

Figura 14a: Consumo de ração semanal em gramas.



Legenda: Dados apresentados em média e desvio padrão; C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4g/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey protein 6g/kg/dia.

Figura 14b: Consumo de ração semanal em gramas.

O quadro 5 (anexo 2) apresenta os valores semanais de consumo de proteína, sendo dividido em proteína da ração (PR) em g/semana, consumo de whey proteins (PW) em g/semana e consumo total de proteína (PT) que é a soma da proteína da ração e consumo de WP corrigido pela massa corporal dos animais. (g/kg).

De outro modo, o consumo de whey proteins acompanha o comportamento do aumento da massa corporal. Na comparação entre grupos, o consumo absoluto de proteína do whey proteins foi dependente da dose em todas as semanas, não apresentando diferenças estatísticas apenas entre os grupos que ingeriram a mesma

dose de whey proteins. Porém, por influência da massa corporal, nas semanas 1, 2 e 3 o grupo TW6 ingeriu de 13 a 17% mais whey proteins comparado ao grupo W6 ($p=0,005$; $<0,001$; $0,00172$), respectivamente nas semanas, após isso os valores não apresentam diferenças estatísticas significativas.

O consumo de proteína total apresentou comportamento de diminuição em todos os grupos no decorrer das semanas. O grupo C apresentou diferença estatística ($p<0,001$) em todas as comparações entre semanas.

De outra forma, o grupo W2 apresenta diferenças estatísticas ($p<0,001$) a cada duas semanas de suplementação, não apresentando diferenças nas seguintes comparações: entre a semana 1 e 2 ($p=0,9987$), 4 e 5 ($p=0,9463$), 7 e 6 ($p=0,6408$), 8 e 9 ($p=0,3399$), 9 e 10 ($p=0,0792$).

Da mesma forma, o grupo W4 apresenta pontos de estabilização não apresentando diferenças estatísticas significativas nas seguintes comparações: entre a semana 1 e 4 ($p=0,96$), 1 e 5 ($p=0,99$), 3 e 4 ($p=0,13$), 8 e 9 ($p=0,33$), 7 e 8 ($p=0,18$), 8 e 9 ($p=0,18$), 10 e 11 ($p=0,20$), as demais comparações apresentaram diferenças estatísticas significativas de $p<0,0001$.

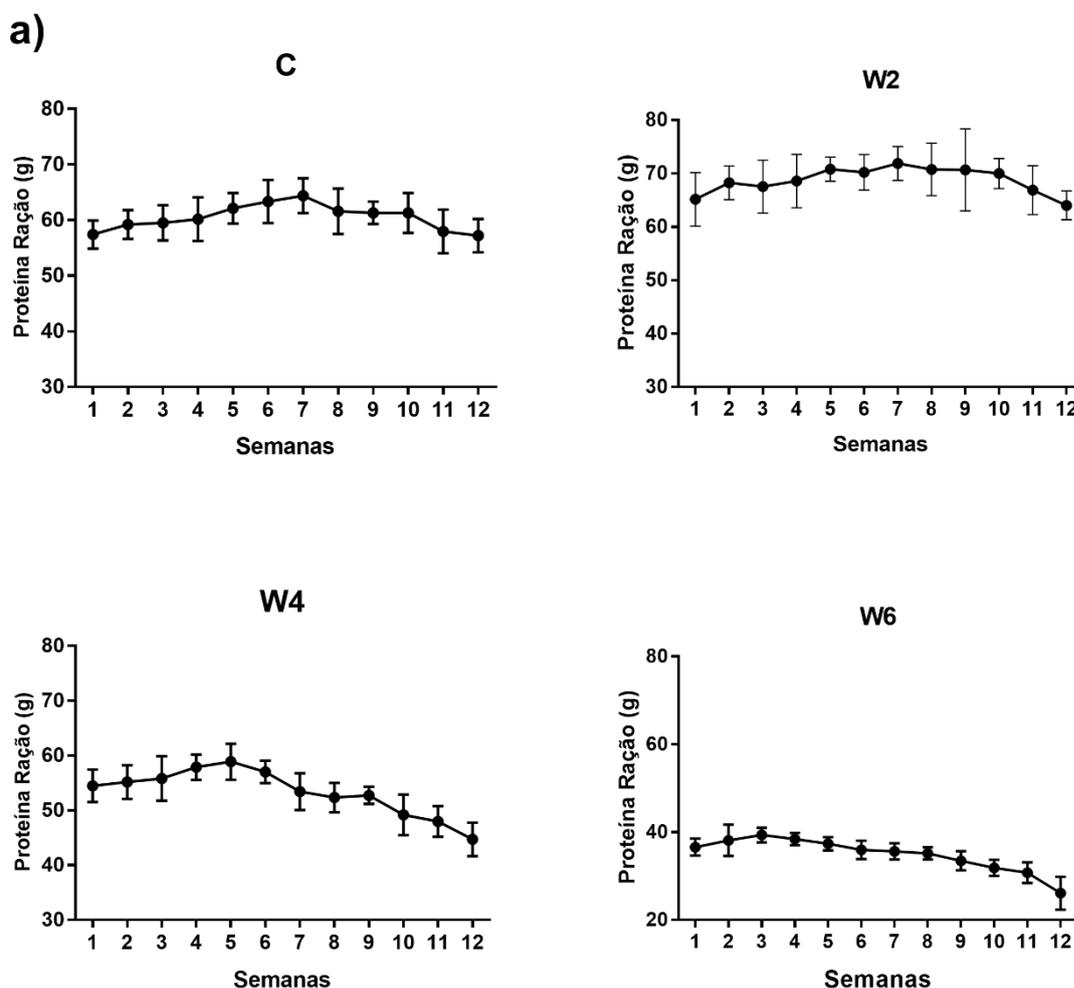
O grupo W6 manteve o consumo nas primeiras duas semanas com seguida diminuição no consumo de proteína e estabilização iniciando-se na semana 6, não demonstrou diferenças estatísticas significativas nas seguintes comparações: entre a semana 1 e 2 ($p=0,68$), 6 e 10 ($p=0,29$), 7 e 8 ($p=0,58$), 7 e 10 ($p=0,99$), 8 e 10 ($p=0,09$), demais comparações apresentaram diferenças estatísticas com $p<0,0001$.

O grupo TC apresentou comportamento semelhante ao grupo C, porém dois pontos de estabilização entre as semanas 8 e 9 ($p=0,93$) e 9 e 10 ($0,058$), as demais comparações apresentaram diferenças estatísticas significativas com $p<0,001$.

O grupo TW2 apresenta pontos de estabilização não apresentando diferenças estatísticas nas seguintes comparações: entre a semana 2 e 3 ($p=0,07$), 6 e 7 ($p=0,99$), 7 e 8 ($p=0,057$), 8 e 9 ($p=0,051$), 9 e 10 ($p=0,99$), 9 e 11 ($p=0,36$), 10 e 11 ($p=0,92$), as demais comparações apresentaram diferenças estatísticas significativas de $p<0,0001$.

O grupo TW4 apresenta pontos de estabilização não apresentando diferenças estatísticas nas seguintes comparações: entre a semana 2 e 3 ($p=0,14$), 4 e 5 ($p=0,99$), 6 e 7 ($p=0,31$), 6 e 8 ($p=0,16$), 7 e 8 ($p=0,99$), 7 e 9 ($p=0,46$), 9, 10 e 11 ($p=0,95$), 10, 11 e 12 ($p>0,999$) as demais comparações apresentaram diferenças estatísticas significativas com $p\leq 0,001$.

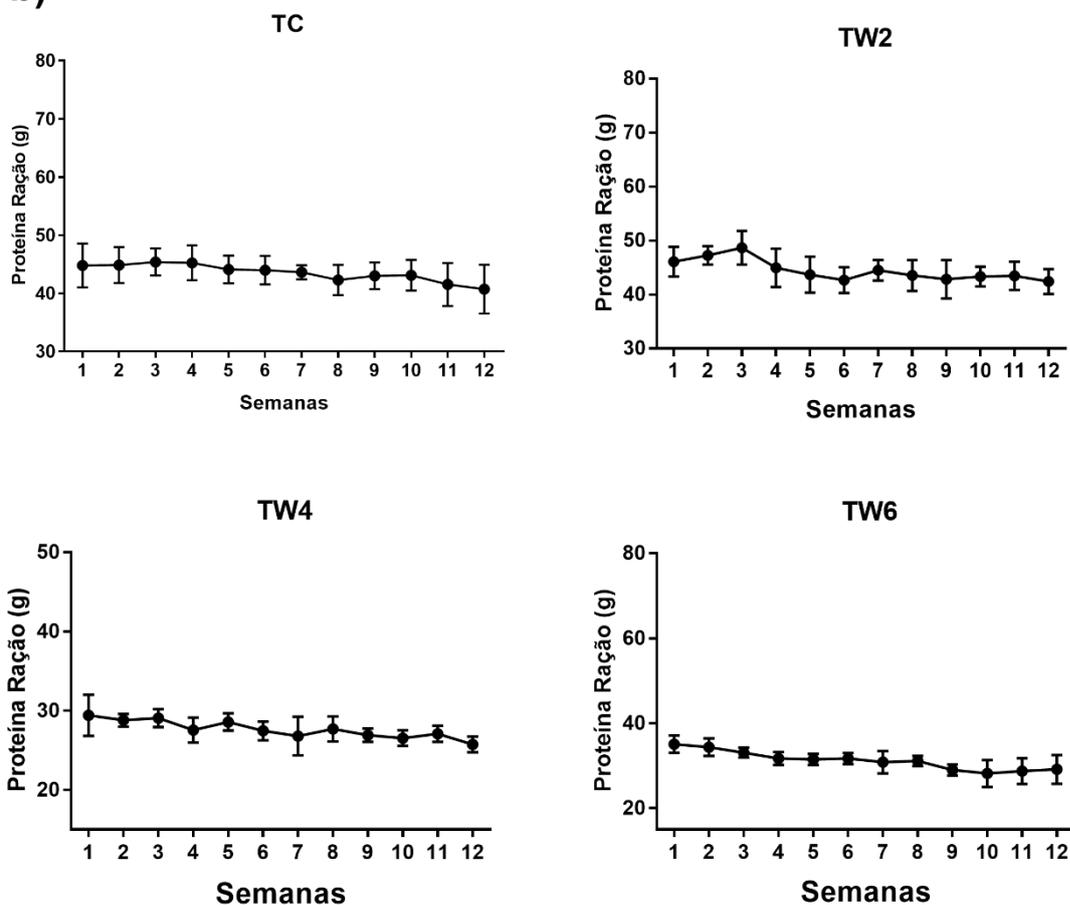
O grupo TW6 apresenta valores de consumo menor do que a semana 1 a partir da semana 4 ($p=0,0006$) e depois disso entre a semana 4 e 10 ($p=0,04$), apresentou estabilização, desse modo, sem diferenças estatísticas significativas.



Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão: C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey protein 6g/kg/dia.

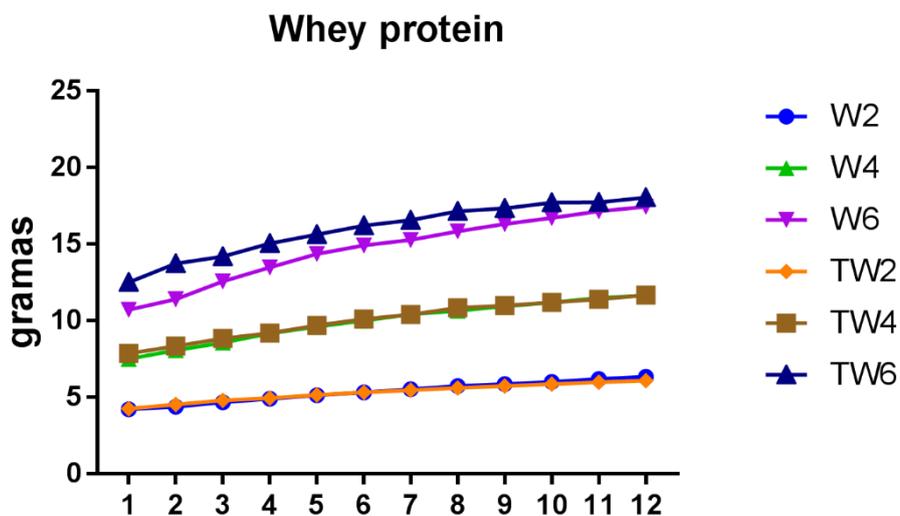
Figura 15a: Consumo de proteína da Ração (g).

b)



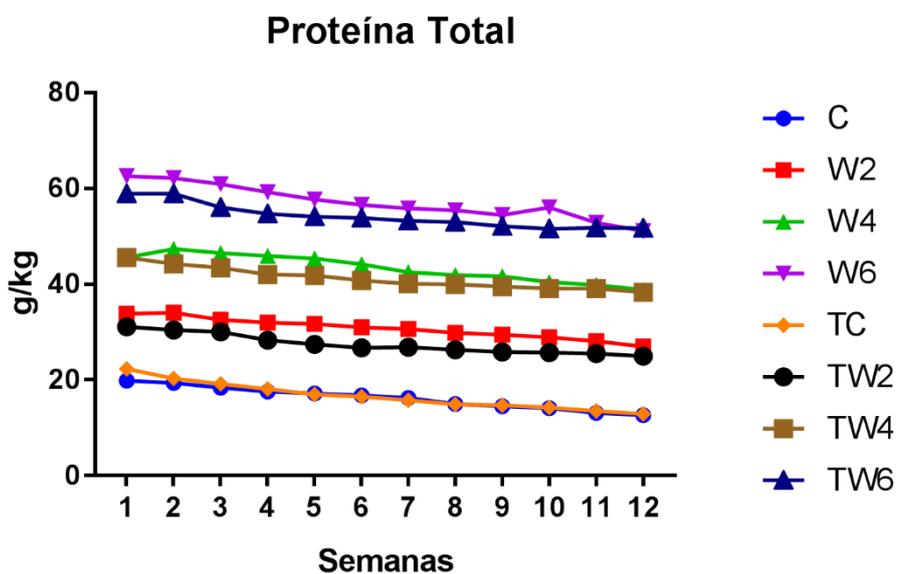
Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão: C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4g/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey protein 6g/kg/dia.

Figura 15b: Consumo de proteína da Ração (g).



Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão; C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4g/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey protein 6g/kg/dia.

Figura 16: Consumo de Whey Proteins (g).



Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão; C: Grupo controle; W2: suplementado whey proteins 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey proteins 4g/kg/dia; W6: suplementado whey proteins 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey proteins 6g/kg/dia.

Figura 17: Proteína Total (g/kg).

7.2 MASSA CORPORAL E DELTA (Δ) DE VARIAÇÃO DA MASSA CORPORAL

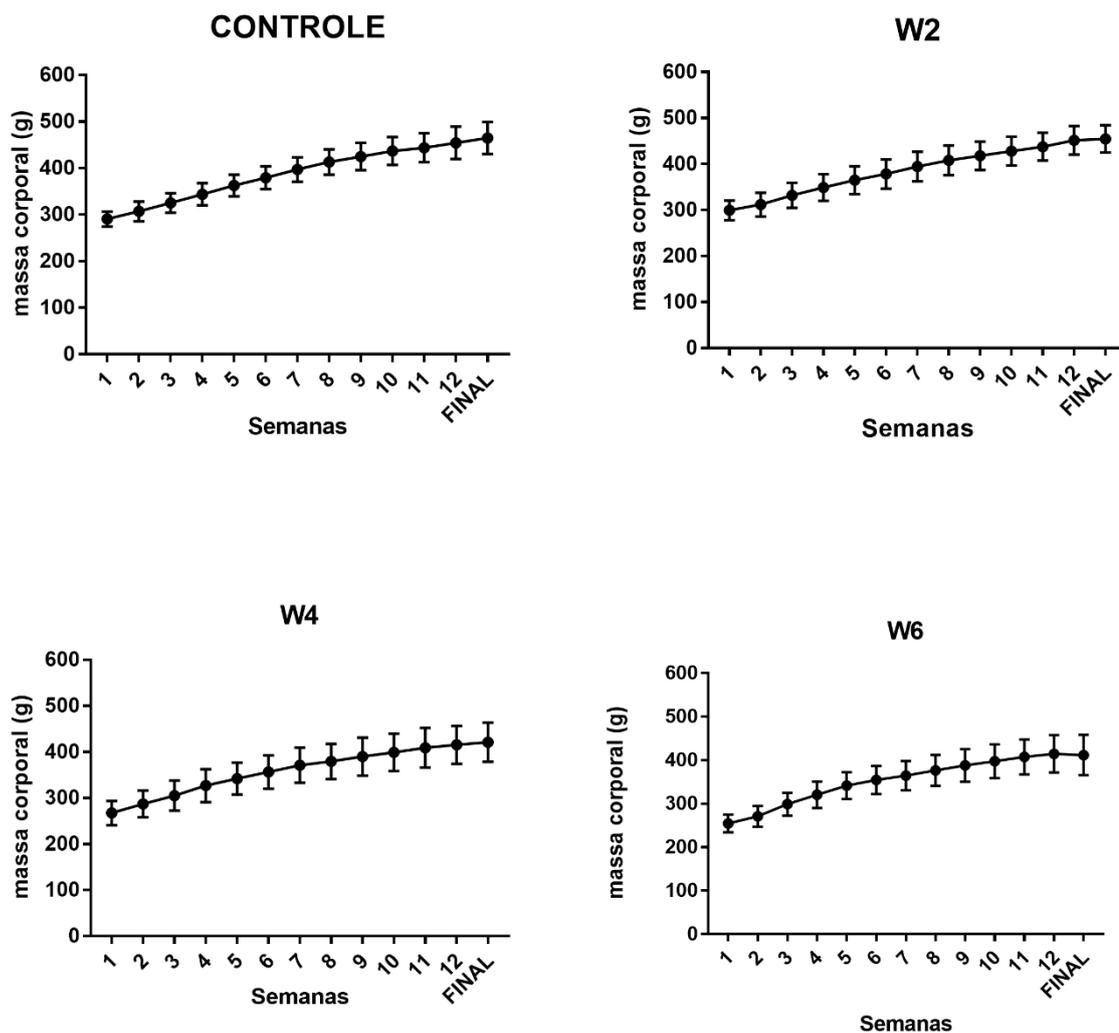
A massa corporal está apresentada no quadro 6 em massa absoluta e delta da alteração semana a semana sempre comparado à semana 1 (Anexo 2).

O comportamento da massa corporal no grupo C é de aumento até a semana 10 em todas as comparações, ($p < 0,0001$), entre a semana 10 e 11 não há diferença estatística e a semana 12 apresenta uma pequena diminuição em relação à 11 ($p = 0,0240$).

No grupo W2, a massa corporal também apresenta comportamento de aumento e todas as comparações entre semana apresentam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,001$) não apresentando nenhum momento de estabilização.

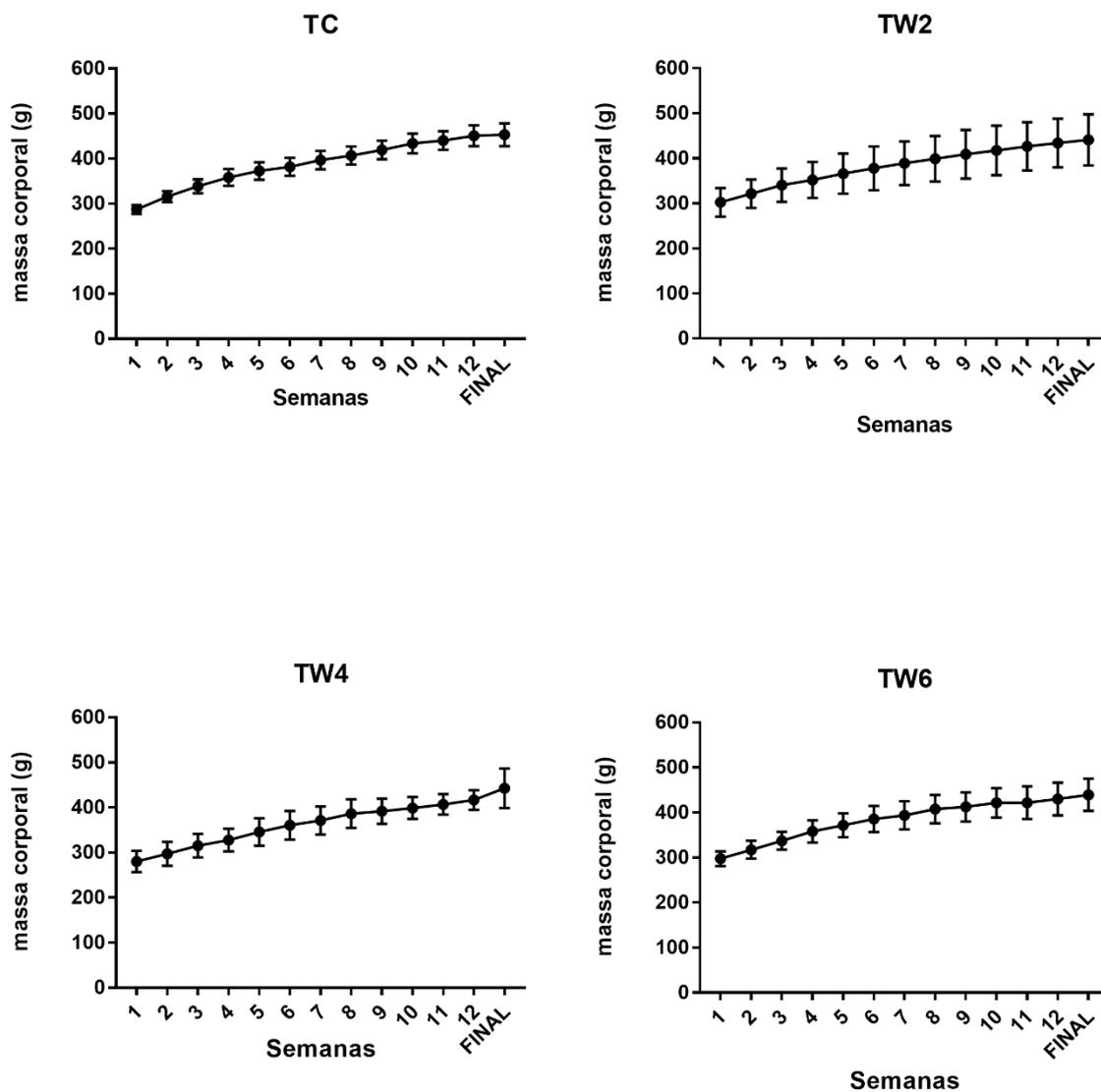
O grupo W4 apresenta comportamento de aumento na massa corporal nas comparações semana a semana, até a semana 7 ($p < 0,001$), a partir desse ponto as diferenças estatísticas significativas são a cada duas semanas ($p < 0,001$).

O grupo W6 apresenta comportamento semelhante ao grupo W4, porém o ponto da primeira estabilização se dá na semana 5.



Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão; C: Grupo controle; W2: suplementado whey proteins 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey proteins 4/kg/dia; W6: suplementado whey proteins 6g/kg/dia; TC: Treinamento resistido controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey proteins 6g/kg/dia.

Figura 18a: Controle de massa corporal semanal (g).



Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão; C: Grupo controle; W2: suplementado whey proteins 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey proteins 4/kg/dia; W6: suplementado whey proteins 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey proteins 6g/kg/dia.

Figura 18b: Controle de massa corporal semanal (g).

O grupo TC também apresenta comportamento de aumento estatístico significativo nas comparações semana a semana, até a semana 5 ($p < 0,01$), após isso as diferenças significativas continuam e há três pontos de estabilização, na semana 7 com a 8 ($p = 0,16$), 10 com 11 ($p = 0,75$) e 11 com 12 ($p = 0,12$).

O grupo TW2 apresenta diferenças estatísticas significativas na comparação semana a semana, nas 3 primeiras semanas ($p < 0,001$), a partir deste ponto os aumentos estatísticos significativos acontecem a cada duas semanas até total estabilização a partir da semana 10.

O grupo TW4 já começa apresentar diferenças estatísticas significativas a cada duas semanas desde o início do estudo até a semana 3 ($p < 0,0001$), após isso os aumentos estatisticamente significativos acontecem a cada 3 semanas se estabilizando na semana 9.

O grupo TW6 apresenta aumento estatisticamente significativo, semana a semana, até a semana 5 ($p < 0,001$), após isso os aumentos estatísticos significativos acontecem a cada duas semanas até a semana 8 e total estabilização a partir da semana 9.

Na comparação entre grupos, apenas na semana 2 o grupo W6 apresentou massa corporal menor do que os grupos TW2 ($p = 0,042$), em todos outros pontos massa corporal não se difere estatisticamente entre grupos.

Além disso foi avaliado a diferença entre grupos do delta de alteração da massa corporal em relação à primeira semana.

O delta de alteração da massa corporal foi semelhante e sem diferenças estatísticas entre os grupos até a semana 7.

Na semana 8 a diferença em relação à primeira semana no grupo C foi maior comparado ao grupo TW2 ($p = 0,0276$).

Na semana 9 o percentual de aumento do grupo C e W6 são maiores do que o grupo TW2 ($p = 0,0129$; $0,0489$, respectivamente).

Na semana 10 o grupo C apresenta maior delta em comparação a TW2 e TW4 ($p = 0,0033$; $0,0475$), respectivamente, W6 e TC também apresentaram delta maior que o grupo TW2 ($p = 0,0366$; $0,0092$).

Na semana 11 os grupos C, W6 e TC apresentaram maior delta do que TW2 ($p=0,0071$; $0,0250$; $0,0228$, respectivamente) e TW6 ($p=0,0175$; $0,0458$; $0,0425$, respectivamente).

Ao final do estudo, o grupo C teve uma média de aumento de 59,8%, o grupo W2 aumentou 52%, W4 aumentou 57,8%, W6 aumentou 61,3% não apresentando diferença entre os grupos sedentários e TC.

Porém, o grupo TC teve aumento de 57,8%, o grupo TW2 aumentou 45,7%, o grupo TW4 aumentou 51,1% e o grupo TW6 aumentou 47,6% em doze semanas de estudo.

Entre os grupos que realizaram treinamento resistido com ou sem suplementação, não houveram diferenças estatísticas significativas, tanto na comparação entre eles ou quando comparados aos grupos W2, W4 ou W6. No entanto, o grupo C apresentou maior delta de variação da massa corporal quando comparado aos grupos TW2, TW4 e TW6 ($p=0,0006$; $0,0130$; $0,0076$, respectivamente).

7.3 TESTE DE PESO MÁXIMO CARREGADO

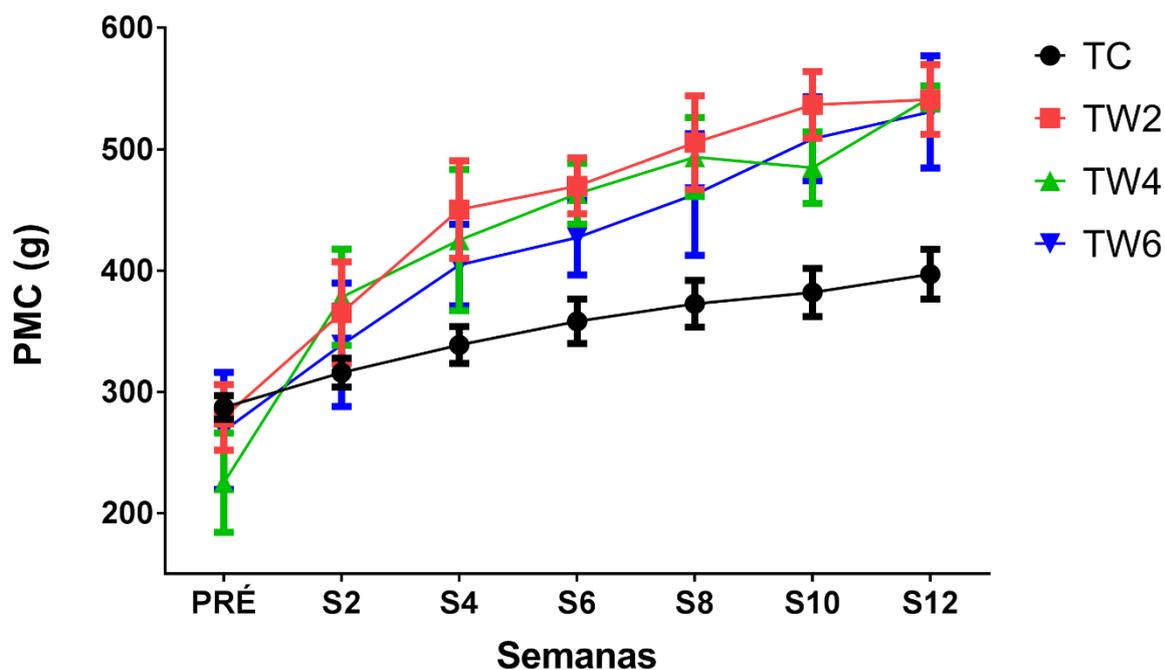
O quadro 7 (Anexo 2) e figura 19 apresenta os valores do teste de peso máximo carregado em gramas que foi realizado pelos grupos TC, TW2, TW4 e TW6. As medidas foram realizadas antes do início do protocolo de treinamento e a cada 2 semanas até o seu encerramento.

Na comparação entre semanas no grupo TC, a força ao final de 12 semanas de treinamento teve um aumento estatístico significativo de aproximadamente 28% comparado ao PRÉ ($p < 0,0001$).

No grupo TW2, ao final de 12 semanas, a força teve um aumento de 49,5% em relação ao momento PRÉ ($p < 0,0001$). O grupo TW4, ao final de 12 semanas, apresentou aumento de aproximadamente 58,5% na força em comparação ao momento PRÉ ($p < 0,0001$). O grupo TW6, ao final de 12 semanas, teve um aumento de de aproximadamente 50,4% em relação ao PRÉ ($p < 0,0001$).

Na comparação entre grupos, o grupo TW4 apresentou força menor comparado aos grupos TC e TW2 ($p = 0,0059$; $0,0142$), respectivamente, no momento PRÉ.

Na semana 2, a força nos grupos TW2 e TW4 já são maiores do que o grupo TC ($p = 0,0206$; $0,0058$), mas não diferentes entre os grupos suplementados. Esse comportamento se repete em todos outros pontos de comparação entre grupos, com exceção da semana 4, onde a força do grupo TW6 é menor que o grupo TW2 ($p = 0,0385$) e na semana 10 onde a força no grupo TW4 é menor do que o grupo TW2 ($p = 0,0200$).



Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão; PMC: Peso máximo carregado; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR: suplementado whey proteins 6g/kg/dia.

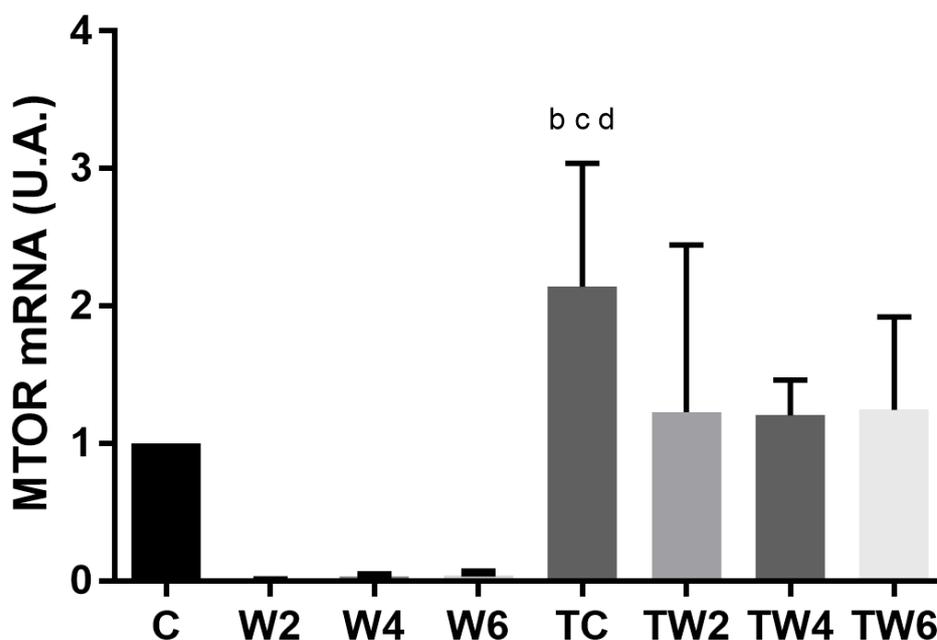
Figura 19: Teste de Peso máximo carregado (g).

7.4 EXPRESSÃO GÊNICA DE MTOR, MURF-1 E MAFBX

O tratamento adotado sobre os dados apresentados a seguir estão em imagens/figuras graficadas.

Os resultados de expressão gênica de MTOR mRNA, MURF-1 mRNA e MAFBX mRNA foram analisados entre grupos e sempre comparados ao grupo controle sedentário.

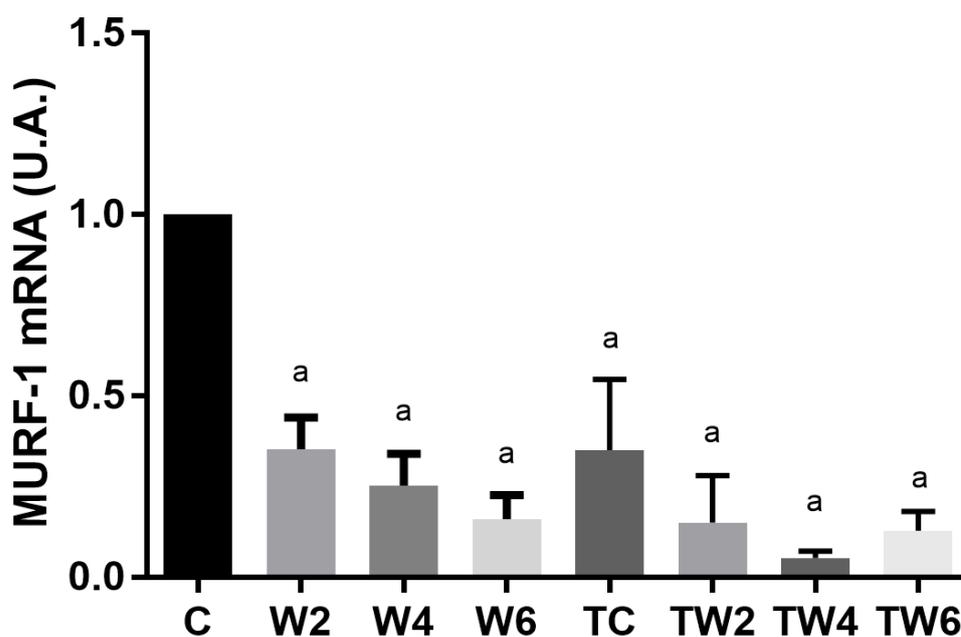
As figuras 19, 20 e 21 representam os valores de expressão gênica de MTOR mRNA, MURF-1 mRNA e MAFBX mRNA, respectivamente, nos grupos sedentários e treinados.



Legenda: C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR: suplementado whey protein 6g/kg/dia; (U.A.) unidade arbitrária; ^ap<0,01 comparado com o grupo C. ^bp<0,01 comparado com o grupo W2; ^cp<0,01 comparado com o grupo W4; ^dp<0,01 comparado com o grupo W6.

Figura 20: Expressão gênica de MTOR mRNA.

A expressão gênica de MTOR mRNA no músculo gastrocnêmio no grupo TC foi maior que os grupos W2, W4 e W6 ($p=0,0021$; $p=0,0043$; $p=0,0059$, respectivamente), mas não apresentou diferença estatística significativa entre grupos controle sedentário e todos os grupos treinados e suplementados.

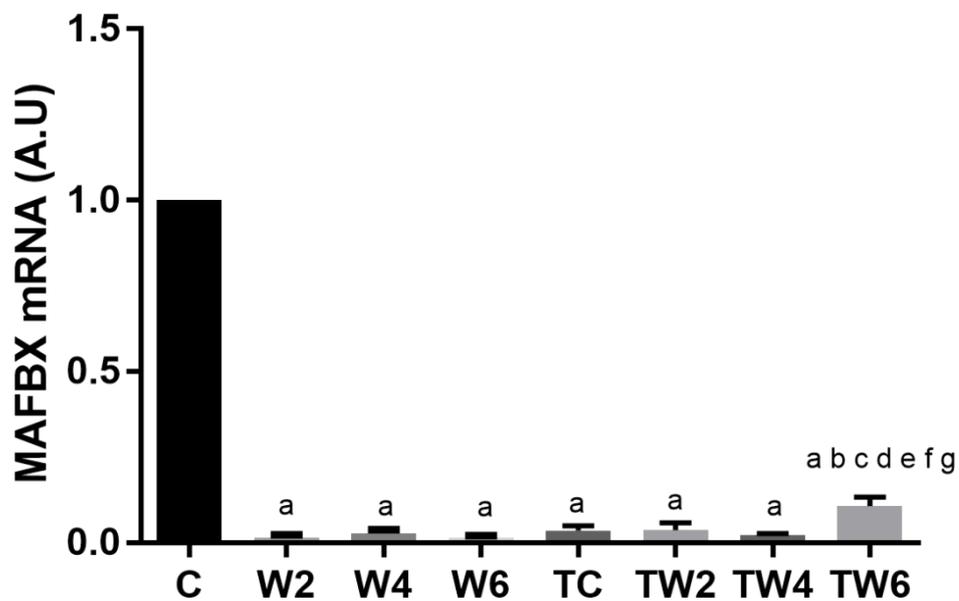


Legenda: C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resistido controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR: suplementado whey protein 6g/kg/dia; (U.A.) unidade arbitrária; ^ap<0,01 comparado com o grupo C.

Figura 21: Expressão gênica de MURF-1 mRNA.

A expressão gênica de MURF-1 mRNA (Figura 20) foi menor em todos os grupos de tratamento, W2, W4, W6, TC, TW2, TW4 e TW6 comparados ao grupo controle ($p < 0,0001$) e não foi diferente na comparação entre as doses de *whey proteins* ou treinamento resistido.

A expressão gênica de MAFBX mRNA (figura 21) em todos os grupos foi menor quando comparados ao grupo controle sedentário, apresentando significância estatística de $p < 0,001$. Além disso, a expressão gênica de MAFBX mRNA no grupo TW6, foi maior do que os grupos W2 ($p = 0,002$), W4 ($p = 0,0019$), W6 ($p = 0,0007$), TC ($p = 0,0149$), TW2 ($p = 0,0424$) e TW4 ($p = 0,0088$).



Legenda: C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR: suplementado whey protein 6g/kg/dia; (U.A.) unidade arbitrária; ^ap<0,01 comparado com o grupo C. ^bp<0,01 comparado com o grupo W2; ^cp<0,01 comparado com o grupo W4; ^dp<0,01 comparado com o grupo W6. ^ep<0,01 comparado com o grupo TC; ^fp<0,01 comparado com o grupo TW2; ^gp<0,01 comparado com o grupo TW4.

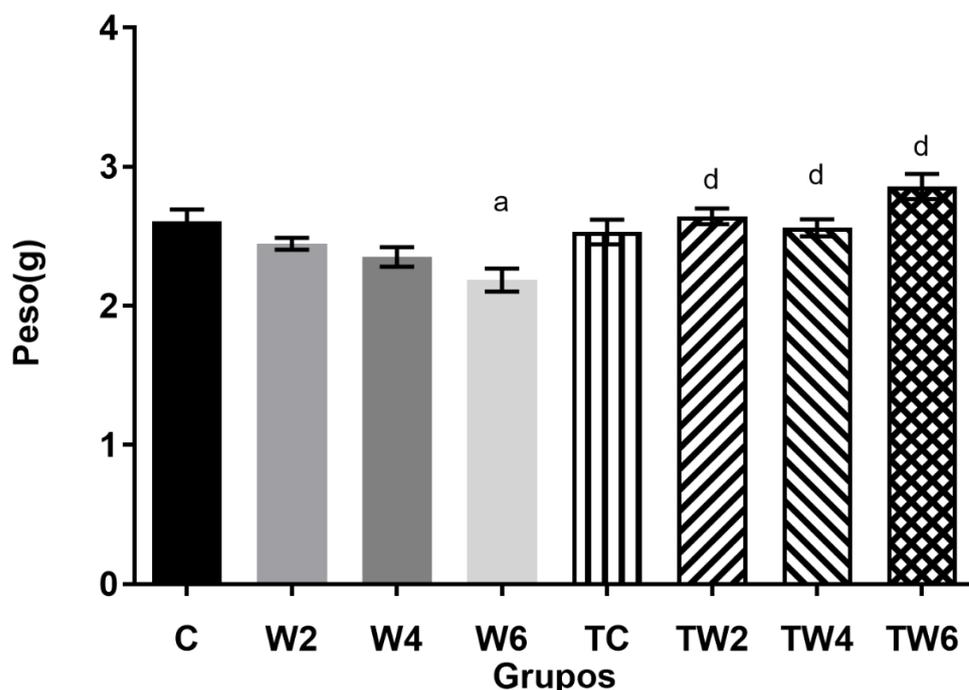
Figura 22: Expressão gênica de MAFBX mRNA.

7.5 MASSA DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO

Os valores da massa absoluta do gastrocnêmio (g), massa relativa à massa corporal (mg/g) e percentual da massa corporal constam no quadro 7 (anexo 2).

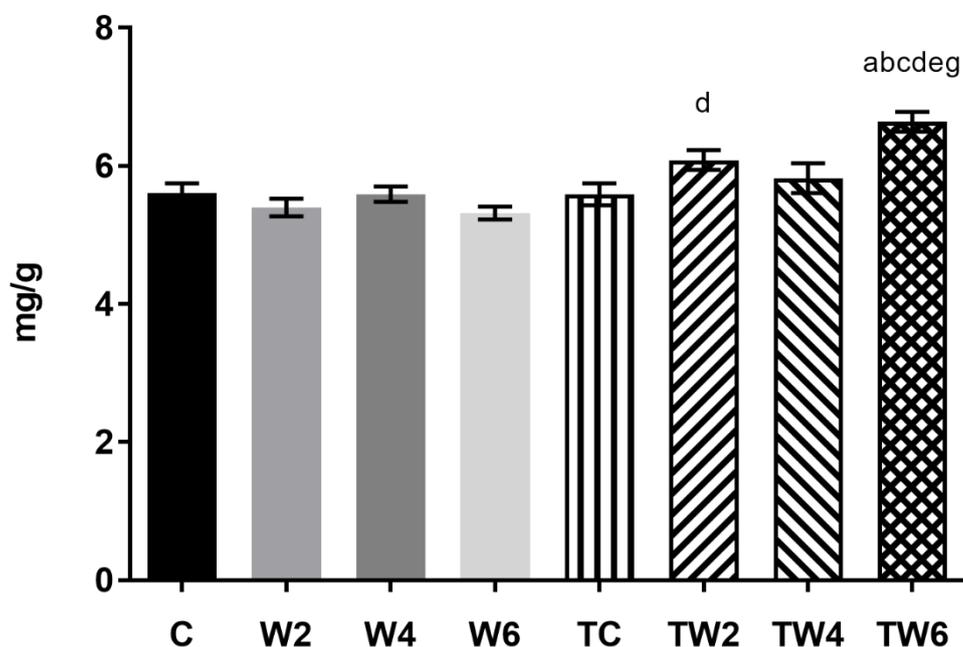
Em relação à massa absoluta, o grupo W6 foi 16% menor em comparação ao grupo C ($p=0,0032$), e os grupos TW2, TW4 e TW6 foram 16%, 14% e 23% maiores, respectivamente, comparados ao grupo W6 ($p=0,0010$; $0,0410$; $<0,0001$, respectivamente).

Ademais, a massa muscular relativa à massa corporal do grupo TW6 foi maior do que os grupos C ($p<0,0001$), W2 ($p<0,0001$), W4 ($p<0,0001$), W6 ($p<0,0001$), TC ($p=0,0002$) e TW4 ($p=0,0122$) e o grupo TW2 foi maior do que W6 ($p=0,0086$).



Legenda: Dados apresentados em média±desvio padrão; TR: Treinamento Resistido; C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resistido controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR: suplementado whey protein 6g/kg/dia. ^a $p<0,01$ comparado com o grupo C. ^b $p<0,01$ comparado com o grupo W2; ^c $p<0,01$ comparado com o grupo W4; ^d $p<0,01$ comparado com o grupo W6. ^e $p<0,01$ comparado com o grupo TC; ^f $p<0,01$ comparado com o grupo TW2; ^g $p<0,01$ comparado com o grupo TW4.

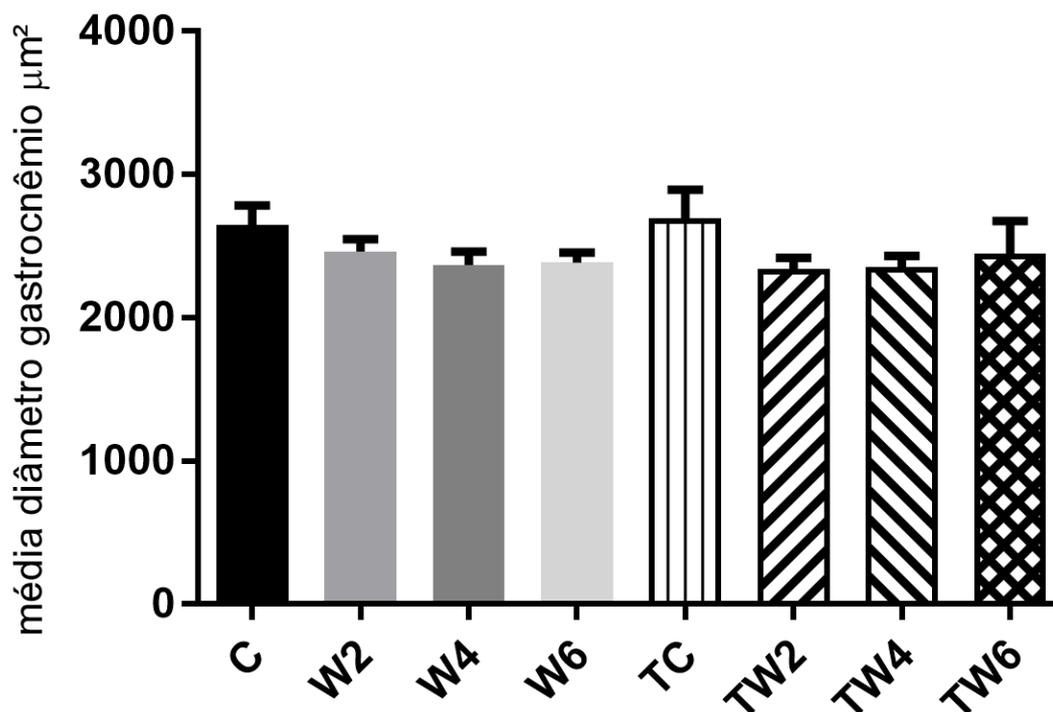
Figura 23: Massa do músculo gastrocnêmio (g).



Legenda: Dados apresentados em média±desvio padrão; TR: Treinamento Resistido; C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resistido controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR: suplementado whey protein 6g/kg/dia. ^ap<0,01 comparado com o grupo C. ^bp<0,01 comparado com o grupo W2; ^cp<0,01 comparado com o grupo W4; ^dp<0,01 comparado com o grupo W6. ^ep<0,01 comparado com o grupo TC; ^fp<0,01 comparado com o grupo TW2; ^gp<0,01 comparado com o grupo TW4.

Figura 24: Massa relativa do músculo gastrocnêmio (mg/g).

7.6 MÉDIA DO DIÂMETRO DAS CÉLULAS DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO



Legenda: Dados apresentados em média±desvio padrão; TR: Treinamento Resistido; C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4g/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resistido controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR: suplementado whey protein 6g/kg/dia.

Figura 25: Média do diâmetro das células do músculo gastrocnêmio (g).

A figura 25 apresenta o resultado da análise histológica, apresentando os os dados de média do diâmetro das células do músculo gastrocnêmio na comparação entre os grupos do estudo. A média do diâmetro das células não apresentou diferenças significativas estatísticas na comparação entre nenhum grupo do estudo.

8 DISCUSSÃO

O processo de hipertrofia do músculo esquelético acontece quando há um balanço positivo das vias de síntese proteica em relação às vias de degradação proteica. A suplementação com whey proteins, que é rico em aminoácidos essenciais como a leucina, além do treinamento resistido, são importantes potencializadores deste processo. O presente estudo mostra resultados favoráveis a suplementação com whey proteins associado ao treinamento resistido como influenciador nas vias de síntese e degradação ($p < 0,01$), além do incremento na força muscular ao longo de doze semanas de treinamento.

Em relação à massa corporal, como demonstrado no quadro 5, os grupos sedentários tiveram aumentos com significância estatística ao longo de 12 semanas, sendo que o grupo C teve uma média de aumento significativamente estatístico de 59,8% ($p < 0,0001$), o grupo W2 aumentou 52% ($p < 0,0001$), W4 aumentou 57,8% ($p < 0,0001$), W6 aumentou 61,3% ($p < 0,0001$) quando comparados à semana 1, e esse delta de variação não teve divergência estatística significativa quando comparados grupos sedentários entre si ou comparados ao grupo TC.

Além disso, os grupos que realizaram treinamento resistido também tiveram aumentos estatisticamente significativos ao longo de doze semanas na massa corporal, onde o grupo TC aumentou 57,8% ($p < 0,0001$), o grupo TW2 aumentou 45,7% ($p < 0,0001$), o grupo TW4 aumentou 51,1% ($p < 0,0001$) e o grupo TW6 aumentou 47,6% ($p < 0,0001$) quando comparados à semana 1.

Entre os grupos treinados, o ganho de massa corporal em doze semanas não teve diferenças estatísticas significativas, e foi semelhante aos grupos W2, W4 e W6. Porém, nos grupos TW2, TW4 e TW6, a suplementação associada ao treinamento resistido promoveu uma menor magnitude no aumento da massa corporal quando comparados ao grupo C, e essa diferença é independente da dose ingerida (Quadro 6).

O comportamento alimentar dos ratos também sofreu modificações no decorrer das semanas desse protocolo. Como demonstrado no quadro 4 de consumo da ração e no quadro 4 de consumo de proteína, o consumo de ração

em ambos os grupos apresenta comportamento de aumento e posterior diminuição ao longo do tempo (Figura 13), com exceção dos grupos W2 e TC que apresentaram consumo constante no decorrer do período. Os grupos sedentários e treinados que igeriram doses de 4 e 6 g/kg/dia a diminuição no consumo de ração é mais acentuada (Figura 13).

Apesar do consumo de proteína na ração nos grupos W4, W6, TW2, TW4 e TW6 diminuir no decorrer do tempo, o consumo de proteína total, que é a soma entre a proteína da ração e a ingestão de whey proteins, foi diferente estatisticamente entre grupos ($p < 0,001$), ilustrados na Figura 16.

A força muscular dos ratos aumentou no decorrer do período de doze semanas em todos os grupos que realizaram treinamento resistido. Como demonstrado no quadro 6, o grupo TC teve aumento estatístico significativo de aproximadamente 28% comparado ao PRÉ ($p < 0,0001$), o grupo TW2 teve um aumento de 49,5% em relação ao momento PRÉ ($p < 0,0001$), o grupo TW4 apresentou aumento de aproximadamente 58,5% na força em comparação ao momento PRÉ ($p < 0,0001$) e o grupo TW6 teve um aumento de de aproximadamente 50,4% em relação ao PRÉ ($p < 0,0001$).

Além disso, no momento PRÉ, na comparação entre grupos, o grupo TW4 apresentou força menor comparado aos grupos TC e TW2 ($p = 0,0059$; $0,0142$). A partir da semana 2, a força nos grupos TW2 e TW4 já são maiores do que o grupo TC ($p = 0,0206$; $0,0058$, respectivamente), mas não diferentes entres os grupos suplementados.

A partir da semana 4 até a semana 12, a força dos ratos do grupo TW2, TW4 e TW6 são maiores que o grupo TC ($p < 0,01$), além de que doses maiores de whey proteins não proporcionaram maior incremento na força em comparação ao grupos que ingeriram doses menores ou não ingeriram, haja vista que, entre os grupos TW2, TW4 e TW6, a força não apresentou diferenças estatísticas significativas a partir de 4 semanas de treinamento resistido (Figura 17).

Esse aumento da força em todos os grupos foi provocado pelas adaptações proporcionadas pelo treinamento resistido, além disso, a melhora da performance nos grupos que treinaram e suplementaram com *whey proteins*

pode estar associado a um aumento dos estoques de glicogênio muscular e hepático que são aumentados pela suplementação de whey proteins como já descritos nos estudos de Morifuji e colaboradores (2005a) e Morifuji e colaboradores (2005b).

Em relação à expressão de MTOR mRNA nos grupos sedentários, esta foi menor nos grupos W2, W4, W6 quando comparados ao grupo controle sedentário ($p < 0,0001$), mostrando que a suplementação, independente da dose de whey proteins não foi suficiente para estimular um aumento na expressão de MTOR mRNA.

O treinamento resistido, no entanto, proporcionou um aumento significativo na expressão gênica de MTOR mRNA quando comparados aos grupos sedentários. Porém, nenhuma das doses de whey proteins administradas, associadas ao treinamento resistido, proporcionou um efeito potencializador dessa expressão, quando comparados ao grupo TC.

Em vista disso, esse resultado reforça que o treinamento resistido é um importante estimulador dessa via de síntese proteica, mas também que apenas o fornecimento de maior quantidade de proteínas a partir do whey proteins não foi suficiente para aumentar a ativação desta via de síntese proteica no músculo esquelético ou potencializar esses efeitos quando associadas ao treinamento resistido.

De forma semelhante, o estudo feito por Gil e colaboradores (2015), com ratos Sprague Dawley machos, visando verificar o efeito do treinamento resistido associado a suplementação com 10% ou 50% da dose diária de Leucina sobre a fosforilação de MTOR, massa corporal e massa do músculo flexor longo do halux. A fosforilação de MTOR foi maior no grupo sedentário 50% de leucina quando comparado ao grupo controle, mas não foi diferente do grupo treinamento resistido. Além do mais, os grupos treinamento resistido associados a 10 ou 50% de leucina apresentaram valores estatísticos significativamente maiores quando comparados ao grupo controle ($p = 0,01$) e a fosforilação de MTOR em treinamento resistido e 50% de leucina também foi significativamente maior do que no grupo que realizou apenas treinamento resistido ($p = 0,03$), mas não foi diferente do grupo treinado e 10% de leucina.

Apesar disso, a massa de flexor longo do halux relativa a massa corporal no grupo treinamento resistido apresentou significativamente valores maiores quando comparado aos grupos sedentários ($p=0,03$), e não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos que realizaram treinamento resistido e suplementação com doses diferentes de leucina (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Desta forma, os resultados mostram uma sinalização maior de MTOR mRNA de acordo com a presença da suplementação de leucina, porém essa sinalização não se refletiu em um maior aumento na massa muscular relativa. Já para os grupos treinados a presença de leucina foi capaz de estimular maior ativação de MTOR e um aumento significativo na massa muscular relativa.

Apesar do estudo de Gil e colaboradores (2015) ter utilizado apenas leucina, os resultados relacionados aos grupos que realizaram treinamento resistido corroboram com os achados neste trabalho.

O estudo de Hellyer e colaboradores (2013), realizado com 60 ratos Sprague Dawley, machos, 3 semanas de idade e aproximadamente 56 gramas, buscou investigar o efeito da realização de treinamento resistido de intensidade moderada (os autores consideram intensidade moderada a carga de até 80% da massa corporal) sobre a hipertrofia e sobre a expressão e fosforilação das proteínas MTOR, AKT e RP-S6.

A área de secção transversa do músculo flexor longo do halux foi aproximadamente 11% maior ($p=0,01$) no grupo treinamento resistido em relação ao grupo sedentário.

A expressão de MTOR, AKT e AMPK foi equivalente nos dois grupos, e a fosforilação de MTOR, AKT e AMPK também não obteve diferenças estatísticas entre grupos (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Por conseguinte, a proporção da proteína RP-S6 fosforilada para não fosforilada foi cerca de 6 vezes menor nos animais do grupo treinamento resistido quando comparados aos sedentários (os autores informam a significância de $p<0,05$, porém não descrevem o valor de p), indicando também

a participação e influência de outras proteínas da cascata dessa reação de síntese, e não apenas a MTOR.

Em outro estudo de Haraguchi e colaboradores (2014), utilizando ratos machos Fischer, buscou-se avaliar a influência do treinamento resistido realizado em modelo de saltos em meio líquido associado ao Whey Protein sobre a expressão de MTOR, realizados por um período de 8 semanas. Em relação a expressão gênica de MTOR, esta foi maior nos grupos que fizeram dieta com Whey Proteins, além do grupo treinamento resistido controle apresentar uma diminuição acentuada ($p < 0,05$) quando comparado aos demais (os autores não descrevem o valor de p , apenas o de significância).

Nesse estudo de Haraguchi e colaboradores (2014), a massa corporal e do músculo gastrocnêmio foram similares nos grupos sedentário, e grupos que ingeriram Whey Proteins, porém maiores do que o grupo treinamento resistido controle ($p = 0,021$).

Estes resultados apontam que Whey Proteins contribui como uma estratégia nutricional eficiente com o intuito de prevenir a diminuição das vias de síntese proteica do músculo esquelético.

Em relação à expressão de MURF-1 mRNA e MAFBX mRNA este estudo mostrou uma redução da expressão dessas ligases de ubiquitina em todos os grupos, quando comparados ao controle sedentário ($p < 0,0001$), porém, com a expressão de MAFBX mRNA sendo maior estatisticamente significativo no grupo TW6 comparado aos grupos W2, W4, W6, TC, TW2 e TW4. Isso mostra um efeito benéfico do Whey Proteins na diminuição da expressão desses marcadores de degradação proteica, mas essa expressão menor não é potencializada de acordo com o aumento da dose de Whey Proteins, e nesse caso foi maior no grupo de maior dose associado ao treinamento resistido.

Além disso, é possível observar que o treinamento resistido, quando realizado mesmo sem a suplementação de Whey Proteins, é capaz de reduzir a expressão de MURF-1 mRNA e MAFBX mRNA. O possível mecanismo que explica esse resultado se deve ao fato de que o aumento da expressão de MTOR mRNA no grupo TC pode ter sido acompanhado de aumento da

ativação de AKT, o que pode fosforilar fatores de transcrição da família *Forkhead Box O transcription factors* (FOXO) impedindo que se transloquem para o núcleo, bloqueando assim a atividade de MURF-1 e MAFBX. (Murton e colaboradores, 2008) (Figura 6), porém isso não se difere com as diferentes doses administradas no estudo.

A menor expressão desses marcadores de degradação proteica é um importante indicativo para um balanço positivo da síntese proteica em relação à a degradação proteica, haja visto que a própria diminuição das vias de degradação pode provocar um aumento na hipertrofia muscular.

O estudo realizado por Zanchi e colaboradores (2009) com ratas Wistar, sedentárias, que realizaram treinamento resistido em modelo de subida em escada por 12 semanas e verificou-se a expressão gênica pelo método da reação em cadeia de polimerase (PCR) dos genes MAFBx, MURF-1, GAPDH, GSK-3 β , 4EBP1, eIF2B ϵ , massa do músculo plantar (mg), razão massa do músculo plantar/massa corporal, mostrou que aumento absoluto ($p < 0,01$) de 12% na massa do músculo plantar do grupo que realizou treinamento resistido, a razão massa do músculo plantar/massa corporal apresentou aumento de 13,7% comparado ao grupo sedentário ($p < 0,01$) e isso foi atribuído a expressão gênica de MAFBx apresentou redução de aproximadamente 60% ($p < 0,05$), e MURF-1 apresentou redução de aproximadamente 40% ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo sedentário.

Além disso, a expressão gênica de GSK-3 β , 4EBP1 e eIF2B ϵ não apresentaram significância estatística ($p < 0,05$) (os autores não descrevem o valor de p, apenas o de significância).

Dessa forma, sugerindo que houve aumento da massa do músculo plantar, e esta pode ser promovida pela diminuição da expressão dos genes das vias de degradação proteica, apesar do não ocorrer aumento da expressão dos genes das vias de síntese proteica.

Além disso, no estudo de Haraguchi e colaboradores (2014) supracitado, também avaliou a expressão gênica de MURF-1 e MAFBX sobre efeito de treinamento resistido e dieta a base de whey proteins. A expressão de MAFBX não apresentou diferenças significativas entre grupos ($p = 0,115$) e MURF-1 foi

reduzida de forma significativa nos grupos que realizaram treinamento resistidos ($p < 0,001$) independente da dieta a base de Whey Proteins. Por esse lado, o treinamento resistido parece ser um importante supressor dessa via de degradação proteica.

Em relação à massa relativa do músculo gastrocnêmio (quadro 8 e figura 21), nos grupos sedentários, essa massa relativa não apresentou diferenças estatísticas significativas, onde apesar de diminuição dos marcadores da via de degradação, a diminuição da expressão de MTOR pode ter contribuído para o equilíbrio entre a síntese e degradação proteica. Já em relação aos grupos treinados, não houve diferença entre os grupos TC, TW2 e TW4, apenas o TW2 foi maior do que o grupo W6. Porém, o grupo TW6 apresentou massa relativa do músculo gastrocnêmio cerca de 0,66% da massa corporal, e esta foi maior do que em todos os outros grupos ($p < 0,0001$), com exceção do grupo TW2.

Em relação à média do diâmetro das células, esta não apresentou diferenças estatísticas significativas na comparação entre todos os grupos, apesar da menor expressão das vias de degradação nos grupos suplementados e treinados, e também uma maior ativação da via síntese nos grupos treinados, estes acontecimentos não foram suficientes para aumentar a média da área das células musculares.

Ademais, esse resultado representa uma possível melhor resposta a dose maior de whey protein, 6g/kg/dia, associado ao treinamento resistido sobre a densidade muscular relativa à massa corporal, o que pode ser um primeiro indício de aumento da massa muscular esquelética.

9 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que a suplementação de Whey Proteins com doses de 2, 4 ou 6 g/kg/dia em ratos sedentários não provocou aumento na expressão de MTOR mRNA, mas provocou diminuição na expressão de MURF-1 mRNA e MAFBX mRNA. Apesar disso, não foi suficiente para proporcionar um aumento na massa muscular relativa entre esses grupos.

Em grupos suplementados com 2, 4 ou 6 g/kg/dia, o treinamento resistido provocou a maior expressão de MTOR mRNA, e diminuição da expressão de MURF-1 mRNA e MAFBX mRNA, porém isso não foi suficiente para ou aumento da área das células musculares.

Entretanto, a dose de 6g/kg/dia de Whey Proteins provocou maior aumento na massa relativa do músculo gastrocnêmio em ratos que realizaram treinamento resistido.

A suplementação com Whey Proteins também proporcionou uma potencialização no aumento da força dos animais que realizaram treinamento resistido.

10 REFERÊNCIAS

ADEGOKE, O.A.J.; ABDULLAHI, A.; TAVAJOHI-FINI, P. mTORC1 and the regulation of skeletal muscle anabolism and mass. **Applied. Physiol. Nutr. Metab.** [s.l.]. Vol. 37. Núm. 3. p. 395-406. 2012.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE JOINT POSITION STATEMENT. Nutrition and Athletic Performance. **Medicine & Science In Sports & Exercise.** [s.l.]. Vol. 48. Núm. 3. p.543-568. 2016.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION AND DIETITIANS OF CANADA. dietary fatty acids. **Journal of the American Dietetic Associaton.** [s.l.]. Vol. 107. Num. 9. p. 1599.e1-1599.e15. 2007.

APARÍCIO, V.A.; NEBOT, E.; PORRES, J.M.; ORTEGA, F.B.; HEREDIA, J.M.; LÓPEZ-JURADO, RAMIRES, P.A. Effects of High-Whey-Protein Intake and resistance training on renal, bone and metabolic parameters in rats. **British Journal of Nutrition.** Vol. 105. Num. 6. p. 836-845. 2011.

BAE, J.Y.; SHIM, K.O.; WOO, J.; WOO, S.H.; JANG, K.S.; LEE, Y.H.; KANG, S. Exercise and dietary change ameliorate high fat diet induced obesity and insulin resistance via mTOR signaling pathway. **Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry.** Vol. 20. Num. 2. p. 028-033. 2016.

BODINE, S.C.; BAAR, K. Analysis of skeletal muscle hypertrophy in models of increased loading. **Methods Mol. Biol.** Vol. 798. Num. [s.n]. p. 213-229. 2012.

CAMERINO, G.M.; DESAPHY, J-F.; DE BELLIS, M.; CAPOGROSSO, R.F.; COZZOLI, A.; DINARDO, M.M.; CALOIERO, R.; MUSARAJ, K.; FONZINO, A.; CONTE, E.; JAGERSCHMIDT, C.; NAMOUR, F.; LIANTONIO, A.; DE LUCA, A.; CAMERINO, D.C.; PIERNO, S. Effects of Nandrolone in the Counteraction of Skeletal Muscle Atrophy in a Mouse Model of Muscle Disuse: Molecular Biology and Functional Evaluation. **PLoS One.** Vol.10. Num. 6. p. e0129686. 2015.

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.

CARRILHO, L.H. Benefícios da utilização da proteína do soro de leite whey protein. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva.** São Paulo. Vol. 7. Num. 40. p.195-203. 2013.

CHEN, W-C.; HUANG, W-C.; CHIU, C-C.; CHANG, Y-K.; HUANG, C-C. Whey protein improves exercise performance and Biochemical profiles in trained mice. **Medicine & Science in sports & exercise.** Vol. 46. Num. 8. p.1517-1524. 2014.

DRUMMOND, M.J.; DREYER, H.C.; PENNINGS, B.; FRY, C.S.; DHANANI, S.; DILLON, E.L.; SHEFFIELD-MOORE, M.; VOLPI, E.; RASMUSSEN, B.B. Skeletal muscle protein anabolic response to resistance exercise and essential amino acids is delayed with aging. **Journal of Applied Physiology**. [s.l.]. Vol. 104. Núm. 5. p.1452-1461. 2008.

D'SOUZA, R.F.; MARWORTH, J.F.; FIGUEIREDO, V.C.; DELLA-GATTA, P.A.; PETERSEN, A.C.; MITCHELL, C.J.; CAMERON-SMITH, D. Dose-dependent increases in p70S6K phosphorylation and intramuscular branched-chain amino acids in older men following resistance exercise and protein intake. **Physiological Reports**. [s.l.]. Vol. 2. Núm. 8. p.12112-12112. 2014.

ELETR, Z.M.; WILKINSON, K.D. Regulation of proteolysis by human deubiquitinating enzymes. **Biochimica et Biophysica Acta (bba) - Molecular Cell Research**. [s.l.]. Vol. 1843. Núm. 1. p.114-128. 2014.

FURRER, R.; JASPERS, R.T.; BAGGERMAN, H.L.; BRAVENBOER, N.; LIPS, P.; HAAN, A. Attenuated increase in maximal force of rat medial gastrocnemius muscle after concurrent peak power and endurance training. **Biomed Research International**. Vol. 2013. 9p. 2013.

GALNA, B.; PETERS, A.; MURPHY, A.; MORRIS, M. Obstacle crossing deficits in older adults: as ystematic review. *Gait and Posture*. Vol. 30. Num. 3. p. 270-275. 2009.

GIL, J.H.; KIM, C.K. Effects of different doses of leucine ingestion following eight weeks of resistance exercise on protein synthesis and hypertrophy of skeletal muscle in rats. **Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry**. Vol. 19. Num. 1. p.31-38. 2015.

GLICKMAN, M.H.; CIECHANOVER, A. The Ubiquitin-Proteasome Proteolytic Pathway: Destruction for the Sake of Construction. **Physiological Reviews**. Vol. 82. Núm. 2. p.373-428. 2002.

GORDON, B.S.; KELLEHER, A.R.; KIMBALL, S.R. Regulation of muscle protein synthesis and the effects of catabolic states. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. [s.l.]. Vol. 45. Núm. 10. p.2147-2157. 2013.

GUERTIN, D.A.; SABATINI, D.M. Defining the Role of MTOR in Cancer. **Cancer Cell**. Vol. 12. Núm. 1. p.9-22. 2007

HARAGUCHI, F.K.; SILVA, M.E.; NEVES, L.X.; SANTOS, R.C.; PEDROSA, M.L. Whey proteins precludes lipid andprotein oxidation and improves body weigth gain in resistance-trained rats. **European Journal of Nutrition**. Vol. 50. Num. 05. p. 331-339. 2011.

HARAGUCHI, F.K.; MAGALHÃES, C.L.B.; NEVES, L.X.; SANTOS, R.C.; PEDROSA, M.L.; SILVA, M.E. Whey protein modifies genes expression related to protein metabolism affecting muscle weigth in resistance-exercised rats. **Nutrition**. Vol. 30. p. 876-871. 2014.

HELLYER, N. J.; NOKLEBY, J.J.; THICKE, B.M.; ZHAN, Z-Z.; SIECK, G.C.; MANTILLA, C.L. Reduced Ribosomal Protein S6 Phosphorylation After Progressive Resistance Exercise in Growing Adolescent Rats. **Journal of Strength and Conditioning Research**, [s.l.]. v. 26. n. 6. p.1657-1666. jun. 2012.

HELMS, E.R.; ARAGON, A.; FITSCHEN, P.J. Evidence-based recommendations for natural bodybuilding contest preparation: nutrition and supplementation. **Journal of The International Society of Sports Nutrition**. [s.l.]. Vol. 11. Núm. 1. p.2-20. 2014.

HORNBERGER, T.A.; FARRAR, R.P. Physiological hipertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can. J. Appl. Physiol.** Vol. 29. Núm. 1. p. 16-31. 2004.

JACKMAN, R.W.; KANDARIAN, S.C. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. **American Journal Of Physiology-cell Physiology**. [s.l.]. Vol. 287. n. 4. p.834-843. 2004.

KARAGOUNIS, L. G.; YASPELKIS B. B.; REEDER, D.W.; LANCASTER, G.I.; HAWLEY, J.A.; COFFEY, V.G. Contraction-induced changes in TNF α and Akt-mediated signalling are associated with increased myofibrillar protein in rat skeletal muscle. **European Journal Of Applied Physiology**, [s.l.]. Vol. 109. Núm. 5. p.839-848. 2010.

KHAMOUI, A.V.; PARK, B-S.; KIM, D-H.; YEH, M.C.; OH, S-L.; ELAM, M.L.; JO, E.; ARJMANDI, B.H.; SALAZAR, G.; GRANT, S.C.; CONTRERAS, R.J.; LEE, W.J.; KIM, J-S. Aerobic and resistance training dependent skeletal muscle plasticity in the colon-26 murine model of cancer cachexia. **Metabolism Clinical and Experimental**. Vol. 65. Num. 5. p. 685-698. 2016.

KRUG, A.L.O.; MACEDO, A.G.; ZAGO, A.S.; RUSH, J.W.E.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. High-Intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. **Muscle & Nerve**. Vol. 53. p. 779-788. 2016.

LAPLANTE, M.; SABATINI, D.M. MTOR signaling at a glance. **Journal of Cell Science**. Vol. 122. Núm. 20. p.3589-3594. 2009.

LAPLANTE, M.; SABATINI, D.M. Regulation of mTORC1 and its impact on gene expression at a glance. **Journal of Cell Science**. Vol. 126. Núm. 8. p.1713-1719. 2013.

LITTLE, J.P.; PHILLIPS, S.M. Resistance exercise and nutrition to counteract muscle wasting. **Applied Physiology Nutr. Metab.** [s.l.]. Vol. 34. Núm. 5. p.817-828. 2009.

LIU, X.; YUAN, H.; NIU, Y.; NIU, W.; FU, L. The role of AMPK/mTOR/S6K1 signaling axis in mediating the physiological process of exercise-induced insulin sensitization in skeletal muscle of C57BL/6 mice. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Molecular Basis Of Disease**. [s.l.]. Vol. 1822. Núm. 11. p.1716-1726. 2012.

LUO, L.; LU, A-M.; WANG, Y.; HONG, A.; CHEN, Y.; HU, J.; LI, X.; QIN, Z-H. Chronic resistance training activates autophagy and reduces apoptosis of muscle cells by modulating IGF-1 and its receptors, AKT/MTOR and AKT/FOXO3a signaling in aged rats. **Experimental Gerontology**. Vol. 48. Num. 4. p.427-436. 2013.

LUO, J.Q.; CHEN, D.W.; YU, B. Upregulation of amino acid transporter expression. induced by L-leucine availability in L6 myotubes is associated with ATF4 signaling through mTORC1-dependent mechanism. **Nutrition**. Vol. 29. Num. 1. p. 284-90. 2013.

MACEDO, A.C.; KRUG, A.L.O.; HERRERA, N.A.; ZAGO, A.S.; RUSH, J.W.E.; AMARAL, S.L. Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. Vol. 143. p.357-364. 2014.

MACINTOSH, B.R.; GARDINER, P.F.; MCCOMAS, A.J. **Skeletal Muscle: Form and Function**. 2ª edição. Champaign. Human Kinetics. 2006. 432p.

MACNAUGHTON, L.S.; WARDLE S.L.; WITARD, O.C.; MCGLORY, C.; HAMILTON, D.L.; JEROMSON, S.; LAWRENCE, C.E.; WALLIS, G.A.; TIPTON, K.D. The response of muscle protein synthesis following whole-body resistance exercise is greater following 40 g than 20 g of ingested whey protein. **Physiological Reports**. [s.l.]. Vol. 4. Núm. 15. p.1-16. 2016.

MCARDLLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. **Fisiologia do Exercício: Nutrição e Desempenho Humano**. 7ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Kogan. 2011. 1132p.

MCGLORY, C.; PHILLIPS, S.M. Exercise and the Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy. In: **Progress in Molecular Biology and Translational Science**. [s.l.] p.153-173. 2015.

MCLVER, C.M.; WYCHERLEY, T.P.; CLIFTON, P.M. MTOR signaling and ubiquitin-proteasome gene expression in the preservation of fat free mass following high protein, calorie restricted weight loss. **Nutrition & Metabolism**. Vol. 9. Num. 83. p. [s.p]. 2012.

MEDEIROS, C.; FREDERICO, M.J.; DA LUZ, G.; PAULI, J.R.; SILVA, A.S.; PINHO, R.A.; VELLOSO, L.A.; ROPELLE, E.R.; DE SOUZA, C.T. Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obesity rats. **Journal of Cellular Physiology**. [s.l.]. Vol. 226. Núm. 3. p.666-674. 2010.

MORIFUJI, M.; SAKAI, K.; SANBONGI, C.; SUGIURA, K. Dietary whey protein increases liver and skeletal muscle glycogen levels in exercise-trained rats. **British Journal of Nutrition**. [s.l.]. Vol. 93. Núm. 4. p.439-445. 2005a.

MORIFUJI, M.; SAKAI, K.; SUGIURA, K. Dietary whey protein modulates liver glycogen level and glycoregulatory enzyme activities in exercise-trained rats. **Experimental Biology and Medicine**. Vol. 230. Núm. 1. p.23-30. 2005b.

MOORE, D.R.; ROBINSON, M.J.; FRY, J.L.; TANG, J.E.; GLOVER, E.I.; WILKINSON, S.B.; PRIOR, T.; TARNOPOLSKY, M.A.; PHILLIPS, S.M. Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men. **American Journal of Clinical Nutrition**. [s.l.]. Vol. 89. n. 1. p.161-168. 2008.

MURTON, A.J.; CONSTANTIN, D.; GREENHAFF, P.I. The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**. Vol. 1782. Núm. 12. p.730-743. 2008.

NAVARRO, D. N.; NAVARRO, A. C. Quantificação e qualificação de estudos científicos sobre o ensino de química-eletróquímica. 12º Congresso Nacional de Iniciação Científica. 2012.

NADERI, A.; DE OLIVEIRA, E.P.; ZIEGENFUSS, T.N.; WILLEMS, M.T. Timing, Optimal Dose and Intake Duration of Dietary Supplements with Evidence-Based Use in Sports Nutrition. **Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry**. [s.l.]. Vol. 20. Núm. 4. p.1-12. 2016.

NEVES, S.M.P.; MANCINI FILHO, J.; MENEZES, E.W. **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. 216p.

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

OGASAWARA, R.; KOBAYASHI, K.; TSUTAKI, A.; LEE, K.; ABE, T.; FUJITA, S.; NAKAZATO, K.; ISHII, N. mTOR signaling response to resistance exercise is altered by chronic resistance training and detraining in skeletal muscle. **Journal Of Applied Physiology**. [s.l.]. Vol. 114, n. 7. p.934-940. 2013.

OGASAWARA, R.; NAKAZATO, K.; SATO, K.; BOPPART, M.D.; FUJITA, S. Resistance exercise increases active MMP and β 1-integrin protein expression in skeletal muscle. **Physiological Reports**. Vol. 2. Num. 11. p.1-8. 2014.

OGASAWARA, R.; SATO, K.; MATSUTANI, K.; NAKAZATO, K.; FUJITA, S. The order of concurrent endurance and resistance exercise modifies mTOR signaling and protein synthesis in rat skeletal muscle. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**. Vol. 306. Num. 10. p.1155-1162. 2014.

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

PHILLIPS, S.M.; VAN LOON, L.J. Dietary protein for athletes: From requirements to optimum adaptation. **Journal of Sports Sciences**. [s.l.]. Vol. 29. Núm. 1. p.29-38. 2011.

PHILLIPS, S.M. Physiologic and molecular bases of muscle hypertrophy and atrophy: impact of resistance exercise on human skeletal muscle (protein and exercise dose effects). **Applied Physiology, Nutrition, And Metabolism**. Vol. 34. Núm. 3. p.403-410. 2009.

ROM, O.; REZNICK, A.Z. The role of E3 ubiquitin-ligases MuRF-1 and MAFbx in loss of skeletal muscle mass. **Free Radical Biology And Medicine**. Vol. 98. p.218-230. 2016.

SHAH, O.J.; JOSHUA C.A; KIMBALL, S.; JEFFERSON, L.S. 4E-BP1 and S6K1: translational integration sites for nutritional and hormonal information in muscle. **American Journal of Physiology-endocrinology and Metabolism**. Vol. 279. Núm. 4. p.715-729. 2000.

SHARP, M.H.; LOWERY, R.P.; MOBLEY, P.; FOX, C.D.; SOUZA, E.O.; SHIELDS, K.A.; HEALY, J.C.; ARICK, N.Q.; THOMPSON, R.M.; ROBERTS, M.D.; WILSON, J.M. The effects of fortetropin supplementation on body composition, strength, and power in humans and mechanism of action in a rodent model. **Journal of the American College of Nutrition**. Vol. 0. Num. 0. p.1-13. 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIAS EM ANIMAIS DE Laboratório (SBCAL/COBEA), 2012. Disponível em: <<http://www.sbcal.org.br>>. Acessado em 01/11/2016

SUDO, M.; ANDO, S.; POOLE, D.C.; KANO, Y. Blood flow restriction prevents muscle damage but not protein synthesis signaling following eccentric contractions. **Physiological Reports**. Vol. 3. Num. 7. p. 1-10. 2015.

TERADA, L. C.; GODOI, M. R.; SILVA, T. C. V.; MONTEIRO, T. L. Efeitos metabólicos da suplementação do Whey Proteins em praticantes de exercícios com peso. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. São Paulo. Vol. 3. Num. 16. p. 295-304. 2009.

THOMAS, J.R.; NELSON, J.K.; SILVERMAN, S.J. **Métodos de pesquisa em atividade física**. 5ª edição. Porto Alegre. Artmed. 2007.

XIA, Z.; CHOLEWA, J.; ZHAO, Y.; YANG, Y.Q.; SHANG, H.Y.; GUIMARÃES-FERREIRA, L.; NAIMO, M.A.; SU, Q.S.; ZANCHI, N.E. Hypertrophy-Promoting Effects of Leucine Supplementation and Moderate Intensity Aerobic Exercise in Pre-Senescent Mice. **Nutrients**. Vol. 8. Núm. 5. p.246-262. 2016.

ZANCHI, N.E.; SIQUEIRA FILHO, M.A.; LIRA, F.S; ROSA, J.C.; YAMASHITA, A.S.; CARVALHO, C.R.O.; SEELAENDER, M. LANCHA JUNIOR, A.H. Chronic resistance training decreases MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression but does not modify Akt, GSK-3 β and p70S6K levels in rats. **European Journal Applied Physiology**. Vol.106. Num. 3. p. 415-423. 2009.

WALKER, D.K.; DICKINSON, J.M.; TIMMERMAN, K.L.; DRUMMOND, M.J.; 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**. [s.l.]. Vol. 43. Núm. 12. p.2249-2258. 2011.

WANG, X. H.; DU, J.; KLEIN, J.D.; BAILEY, J.L.; MITCH, W.E.; Exercise ameliorates chronic kidney disease–induced defects in muscle protein metabolism and progenitor cell function. **Kidney International**. [s.l.]. Vol. 76. Núm. 7. p.751-759. 2009.

WANG, W.; CHOI, R.H.; SOLARES, G.J.; TSENG, H-M.; DING, Z.; KIM, K.; IVY, J.L. L-Alanylgutamine inhibits signaling proteins that activate protein degradation, but does not affects proteins that activate synthesis after an acute resistance training. **Amino Acids**. Vol. 47. Num. 7. p. 1389-1398. 2015.

11 ANEXOS

Anexo 1 - Parecer Consubstanciado Inicial de Aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA.

Anexo 2 – QUADROS DE RESULTADOS DA PESQUISA

Quadro 4: Consumo de ração semanal em gramas.

| Semanas | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|---|
| C(n=10) | 261 ±11,55 | 269,2 ±11,77 | 270,6 ±14,46 | 273,6 ±17,79 | 282,5 ±12,54 | 288 ±17,68 (1*) | 292,7 ±14,21 (1*) | 279,9 ±14,21 | 278,7 ±9,18 | 278,7 ±16,2 | 263,6 ±17,76 ^(7*) | 260,1 ±13,58 (7*) |
| W2(n=11) | 296,2 ±22,84 | 310,4 ±14,4 | 307,1 ±22,45 | 311,9 ±22,74 | 321,8 ±10,29 | 319,2 ±15,18 | 326,8 ±14,36 | 321,6 ±22,39 | 321,3 ±34,87 | 318,2 ±12,79 | 304,1 ±20,89 | 291,1 ±12,15 |
| W4(n=10) | 247,6 ±13,43 | 250,8 ±13,9 | 253,8 ±18,51 | 263,1 ±10,45 | 267,7 ±14,86 | 259,2 ±9,26 | 242,8 ±15,18 (5*) | 237,9 ±12,27 (4,5*) | 239,7 ±7,07 (5*) | 223,6 ±16,91 (1,3,4,5,6*) | 218,1 ±12,69 (1,2,3,4,5,6,7*) | 203,2 ±13,88 (1,2,3,4,5,6,7,8,9*) |
| W6(n=7) | 166,4 ±8,70 | 173,4 ±16,21 | 178,9 ±7,60 | 174,7 ±6,32 | 169,9 ±6,86 | 163,6 ±9,58 | 161,9 ±8,46 | 159,9 ±6,45 (3*) | 152,2 ±9,84 (2,3,4*) | 144,9 ±8,46 (1,2,4,5,6*) | 140 ±10,65 (1,2,3,4,5,6,7,8*) | 118,7 ±16,95 (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11*) |
| TC(n=7) | 203,7 ±17,1 | 204 ±14,08 | 206,4 ±10,58 | 205,7 ±13,64 | 200,5 ±10,84 | 200 ±11,14 | 198,3 ±5,47 | 192,2 ±11,81 | 195,5 ±10,47 | 196 ±12,03 | 188,8 ±16,72 | 185,1 ±19,07 |
| TW2(n=9) | 209,6 ±12,46 | 214,9 ±7,78 | 221,3 ±14,19 | 204,4 ±16,19 | 198,6 ±15,19 (3*) | 194 ±10,81 (3*) | 202,3 ±8,69 | 197,9 ±12,93 (3*) | 194,8 ±16,19 (3*) | 197,1 ±8,41 (3*) | 197,6 ±11,89 (3*) | 192,8 ±10,47 (3*) |
| TW4(n=6) | 133,8 ±11,8 | 130,9 ±3,70 | 132,1 ±5,17 | 125,3 ±7,12 | 130 ±4,88 | 124,8 ±5,40 | 121,9 ±11,01 (1*) | 125,9 ±7,16 | 122,4 ±3,86 (1*) | 120,6 ±4,48 (1,3*) | 123,2 ±4,69 | 117 ±4,51 (1,2,3,5*) |
| TW6(n=7) | 159,5 ±9,29 | 156,2 ±9,29 | 150,4 ±5,28 | 144,2 ±6,95 | 143,1 ±5,90 | 144,2 ±5,82 | 140,2 ±11,93 (1*) | 141,4 ±5,32 (1*) | 131,9 ±5,88 (1,2,3*) | 128 ±14,46 (1,2,3*) | 130,6 ±13,78 (1,2,3*) | 132,5 ±15,35 (1,2,3*) |

Legenda: Dados apresentados em média e desvio padrão e símbolos para significância; C: Grupo controle; W2: suplementado whey proteins 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey proteins 4/kg/dia; W6: suplementado whey proteins 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey proteins 6g/kg/dia; *: $p < 0,05$ comparado com o número da semana correspondente; O valor de p estatístico e a comparação entre grupos está descrito no texto.

Quadro 5: Consumo de Proteína da ração absoluto (g), consumo de whey proteins absoluto (g) e proteína total relativo (g/kg).

| Semanas | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---------------------|----|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| C (n=10) | PR | 57,4 ±2,54 | 59,2 ±2,84 | 59,5 ±3,18 | 60,2 ±3,91 | 62,1 ±2,76 | 63,3 ±3,89 (1*) | 64,4 ±3,13 (1*) | 61,5 ±4,08 | 61,3 ±2,02 | 61,3 ±3,56 | 57,9 ±3,91 (7*) | 57,2 ±2,99 (7*) |
| | PW | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | PT | 19,8 ±1,12 | 19,3 ±1,39 | 18,3 ±1,22 | 17,5 ±1,25 | 17,1 ±1,13 | 16,7 ±1,12 | 16,2 ±1,10 | 14,9 ±1,03 | 14,4 ±1,03 | 14,1 ±1,01 | 13,1 ±0,96 | 12,6 ±1,03 |
| W2 (n=11) | PR | 65,1 ±5,03 | 68,2 ±3,47 | 67,5 ±4,94 | 68,6 ±5,00 | 70,8 ±2,26 | 70,2 ±3,34 | 71,9 ±3,16 | 70,7 ±4,93 | 70,6 ±7,67 | 70,0 ±2,81 | 66,9 ±4,60 | 64,0 ±2,67 |
| | PW | 4,194 ±0,298 | 4,368 ±0,362 | 4,654 ±0,378 | 4,887 ±0,405 | 5,112 ±0,423 | 5,301 ±0,443 | 5,52 ±0,449 | 5,714 ±0,449 | 5,853 ±0,430 | 5,999 ±0,435 | 6,182 ±0,402 | 6,324 ±0,431 |
| | PT | 33,8 ±1,50 | 34,0 ±1,85 | 32,5 ±1,68 | 31,9 ±1,63 | 31,7 ±1,61 | 30,9 ±1,54 | 30,6 ±1,47 | 29,8 ±1,39 | 29,4 ±1,24 | 28,9 ±1,18 | 28,0 ±1,22 | 26,9 ±0,95 |
| W4 (n=10) | m | 54,4 ±3,23 | 55,1 ±3,06 | 55,8 ±4,07 | 57,8 ±2,30 | 58,8 ±3,27 | 57,0 ±2,04 | 53,4 ±3,34 (5*) | 52,3 ±2,70 (4,5*) | 52,7 ±1,56 (5*) | 49,1 ±3,72 (1 a 6*) | 47,9 ±2,79 (1 a 7*) | 44,7 ±3,05 (1 a 9*) |
| | PW | 7,49 ±0,731 | 8,042 ±0,817 | 8,562 ±0,906 | 9,156 ±1,005 | 9,585 ±0,969 | 9,982 ±1,02 | 10,4 ±1,071 | 10,63 ±1,069 | 10,92 ±1,153 | 11,18 ±1,136 | 11,46 ±1,203 | 11,64 ±1,158 |
| | PT | 45,5 ±1,79 | 47,3 ±2,02 | 46,5 ±1,98 | 45,8 ±1,96 | 45,3 ±1,74 | 44,1 ±1,62 | 42,5 ±1,48 | 41,9 ±1,40 | 41,6 ±1,45 | 40,4 ±1,28 | 39,8 ±1,24 | 38,8 ±1,08 |

Continuação do quadro 5: Consumo de Proteína da ração absoluto (g), consumo de whey proteins absoluto (g) e proteína total relativo (g/kg)

| Semanas | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|----------------------------|----|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| W6 (n=7) | PR | 36,5 ±1,91 | 38,1 ±3,56 | 39,3 ±1,68 | 38,4 ±1,39 | 37,3 ±1,51 | 35,9 ±2,11 | 35,6 ±1,86 | 35,1 ±1,42 (3*) | 33,4 ±2,17 (2,3,4*) | 31,8 ±1,86 (1,2,4,5,6*) | 30,7 ±2,34 (1 a 8*) | 26,1 ±3,73 (1 a 11*) |
| | PW | 10,7 ±0,857 | 11,39 ±1,008 | 12,56 ±1,102 | 13,48 ±1,282 | 14,35 ±1,286 | 14,9 ±1,372 | 15,25 ±1,458 | 15,83 ±1,492 | 16,31 ±1,557 | 16,71 ±1,625 | 17,13 ±1,683 | 17,42 ±1,809 |
| | PT | 62,6 ±1,71 | 62,1 ±1,80 | 60,9 ±1,69 | 59,2 ±1,65 | 57,7 ±1,44 | 56,6 ±1,36 | 55,8 ±1,28 | 55,4 ±1,25 | 54,4 ±1,20 | 56,0 ±1,37 | 52,8 ±1,06 | 51,0 ±0,99 |
| TC (n=17) | PR | 44,8 ±3,76 | 44,8 ±3,10 | 45,4 ±2,33 | 45,2 ±3,29 | 44,1 ±2,39 | 43,9 ±2,45 | 43,6 ±1,20 | 42,2 ±2,60 | 43,0 ±2,30 | 43,1 ±2,65 | 41,5 ±3,68 | 40,7 ±4,19 |
| | PW | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | PT | 22,3 ±0,75 | 20,3 ±0,75 | 19,1 ±0,85 | 18,0 ±0,90 | 16,9 ±0,88 | 16,4 ±0,86 | 15,7 ±0,81 | 14,8 ±0,75 | 14,6 ±0,72 | 14,2 ±0,73 | 13,4 ±0,64 | 12,9 ±0,67 |
| TW2 (n=9) | PR | 46,1 ±2,74 | 47,2 ±1,88 | 48,6 ±3,82 | 44,9 ±3,91 | 43,7 ±3,34 (3*) | 42,6 ±2,38 (3*) | 44,5 ±1,91 | 43,5 ±2,84 (3*) | 42,8 ±3,56 (3*) | 43,3 ±1,85 (3*) | 43,4 ±2,62 (3*) | 42,4 ±2,30 (3*) |
| | PW | 4,236 ±0,443 | 4,505 ±0,440 | 4,772 ±0,516 | 4,931 ±0,558 | 5,128 ±0,622 | 5,294 ±0,682 | 5,449 ±0,677 | 5,589 ±0,707 | 5,728 ±0,755 | 5,85 ±0,769 | 5,974 ±0,751 | 6,077 ±0,755 |
| | PT | 31,0 ±1,77 | 30,4 ±1,61 | 30,0 ±1,78 | 28,3 ±1,64 | 27,4 ±1,62 | 26,7 ±1,65 | 26,8 ±1,55 | 26,2 ±1,53 | 25,8 ±1,52 | 25,6 ±1,46 | 25,4 ±1,37 | 24,9 ±1,29 |

Continuação do quadro 5: Consumo de Proteína da ração absoluto (g), consumo de whey proteins absoluto (g) e proteína total relativo (g/kg)

| Semanas | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|----------------------|----|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| TW4 (n=6) | PR | 29,4 ±3,18 | 28,8 ±1,00 | 29,0 ±1,39 | 27,5 ±1,71 | 28,5 ±1,08 | 27,4 ±1,19 | 26,8 ±2,42 (1*) | 27,6 ±1,57 | 26,9 ±0,85 (1*) | 26,5 ±0,98 (1,3*) | 27,0 ±1,03 | 25,7 ±1,09 (1,2,3,5*) |
| | PW | 7,85 ±0,656 | 8,325 ±0,737 | 8,825 ±0,723 | 9,179 ±0,697 | 9,68 ±0,849 | 10,1 ±0,886 | 10,39 ±0,867 | 10,82 ±0,888 | 10,97 ±0,778 | 11,17 ±0,680 | 11,39 ±0,632 | 11,66 ±0,605 |
| | PT | 45,5 ± 1,42 | 44,2 ± 1,38 | 43,4 ± 1,22 | 42,0 ± 1,02 | 41,8 ± 1,20 | 40,7 ± 1,09 | 40,0 ± 0,97 | 40,0 ± 0,95 | 39,4 ± 0,79 | 39,1 ±0,66 | 39,1 ±0,60 | 38,3 ±0,53 |
| TW6 (n=7) | PR | 35,0 ±2,50 | 34,3 ±2,50 | 33,0 ±1,16 | 31,7 ±1,53 | 31,4 ±1,29 | 31,7 ±1,28 | 30,8 ±2,63 (1*) | 31,1 ±1,17 (1*) | 29,0 ±1,29 (1,2,3*) | 28,1 ± 3,18 (1,2,3*) | 28,7 ±3,04 (1,2,3*) | 29,1 ±3,71 (1,2,3*) |
| | PW | 12,5 ±0,683 | 13,72 ±1,41 | 14,17 ±0,835 | 15,04 ±1,106 | 15,62 ±1,106 | 16,2 ±1,22 | 16,54 ±1,313 | 17,13 ±1,328 | 17,33 ±1,355 | 17,7 ±1,383 | 17,72 ±1,521 | 18,03 ±1,500 |
| | PT | 58,8 ± 0,91 | 58,9 ±5,98 | 56,0 ±0,82 | 54,7 ±0,86 | 54,1 ±0,84 | 53,8 ±0,87 | 53,2 ±0,87 | 52,9 ±0,83 | 52,0 ±0,76 | 51,5 ±0,73 | 51,7 ±0,79 | 51,6 ±0,83 |

Legenda: PR = Proteína da ração; PW = Soma do Consumo de Whey Proteins; PT = Proteína total em gramas/quilo/semana. C: Grupo controle; W2: suplementado whey proteins 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey proteins 4g/kg/dia; W6: suplementado whey proteins 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey proteins 6g/kg/dia; *: $p < 0,05$ comparado com o número da semana correspondente; O valor de p estatístico e a comparação entre grupos está descrito no texto.

Quadro 6: Massa corporal em gramas dos grupos durante as semanas.

| Semanas | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | FINAL |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| C(n=10) | 290,5 ±16,39 | 307,2 ±21,20 | 325,1 ±0,04 | 343,9 ±23,81 | 362,7 ±23,24 | 379,0 ±24,52 | 397,1 ±26,15 | 413,1 ±27,26 | 424,9 ±29,23 | 436,7 ±30,02 | 443,9 ±31,01 | 454,4 ±34,88 | 464,8 ±34,5 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 16,65 ±6,97 | 34,60 ±8,82 | 53,36 ±11,70 | 72,15 ±10,68 | 88,52 ±11,99 | 106,55 ±13,05 | 122,63 ±13,32 | 134,44 ±15,41 | 146,17 ±15,85 | 153,39 ±17,11 | 163,93 ±21,02 | 174,26 ±19,94 | |
| W2(n=11) | 299,7 ±21,13 | 312,0 ±25,09 | 332,4 ±27,03 | 349,0 ±28,94 | 365,1 ±30,25 | 378,6 ±31,69 | 394,8 ±31,92 | 408,1 ±32,07 | 418,0 ±30,75 | 428,4 ±31,09 | 437,9 ±30,20 | 451,7 ±30,82 | 455,0 ±29,6 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 12,43 ±7,60 | 32,87 ±10,99 | 49,49 ±12,35 | 65,57 ±13,15 | 79,05 ±14,93 | 95,25 ±15,58 | 108,56 ±15,92 | 118,49 ±14,89 | 128,91 ±15,14 | 138,41 ±13,82 | 152,13 ±14,54 | 155,39 ±14,32 | |
| W4(n=10) | 267,5 ±26,12 | 287,2 ±29,19 | 305,3 ±32,65 | 327,0 ±35,88 | 342,3 ±34,61 | 356,5 ±36,42 | 371,4 ±38,17 | 379,6 ±38,16 | 390,0 ±41,18 | 399,2 ±40,56 | 409,3 ±42,96 | 415,6 ±41,35 | 421,5 ±42,5 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 19,72 ±8,13 | 37,88 ±11,56 | 59,51 ±13,82 | 74,81 ±14,51 | 89,00 ±17,68 | 103,97 ±20,48 | 112,16 ±20,27 | 122,55 ±23,71 | 131,78 ±24,68 | 141,83 ±26,73 | 148,13 ±25,85 | 153,95 ±26,90 | |
| W6(n=7) | 254,8± 20,41 | 271,2 ±24,00 | 299,0 ±26,24 | 320,8 ±30,53 | 341,5 ±30,61 | 354,7 ±32,68 | 364,5 ±33,53 | 376,8 ±35,52 | 388,2 ±37,50 | 397,8 ±38,68 | 407,8 ±40,08 | 414,7 ±43,07 | 411,9 ±46,1 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 16,41 ±7,10 | 44,23 ±7,10 | 66,03 ±11,90 | 86,73 ±11,76 | 99,87 ±14,17 | 109,73 ±14,67 | 121,96 ±17,22 | 133,43 ±19,59 | 142,97 ±20,46 | 152,97 ±22,35 | 159,87 ±24,94 | 167,10 ±27,59 | |
| TC(n=7) | 287,0± 9,08 | 315,7 ±11,88 | 338,7 ±15,30 | 358,1 ±18,39 | 372,5 ±19,33 | 381,9 ±20,01 | 396,8 ±20,58 | 406,8 ±20,34 | 419,2 ±20,64 | 433,7 ±21,91 | 440,2 ±20,45 | 450,7 ±23,15 | 453,14 ±25,27 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 28,67 ±2,79 | 51,63 ±7,72 | 71,07 ±10,34 | 85,50 ±12,32 | 94,84 ±13,42 | 109,79 ±13,72 | 119,81 ±14,44 | 132,13 ±14,54 | 146,67 ±17,13 | 153,21 ±14,86 | 163,64 ±16,72 | 166,07 ±18,36 | |

Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão e símbolos para significância; C: Grupo controle; W2: suplementado whey proteins 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey proteins 4/kg/dia; W6: suplementado whey proteins 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey proteins 6g/kg/dia; *: $p < 0,05$ comparado com o número da semana correspondente; O valor de p estatístico e a comparação entre grupos está descrito no texto.

Continuação do quadro 6: Massa corporal em gramas dos grupos durante as semanas.

| Semanas | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | FINAL |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| TW2(n=9) | 302,5 ±31,66 | 321,7 ±31,43 | 340,8 ±36,92 | 352,1 ±39,91 | 366,2 ±44,47 | 378,1 ±48,71 | 389,2 ±48,37 | 399,1 ±50,55 | 409,1 ±53,97 | 417,8 ±54,93 | 426,7 ±53,69 | 434,0 ±53,98 | 441,23 ±56,74 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 19,24 ±5,38 | 38,31 ±12,02 | 49,64 ±13,75 | 63,73 ±17,38 | 75,58 ±22,24 | 86,70 ±21,74 | 96,64 ±24,73 | 106,59 ±29,34 | 115,28 ±28,56 | 124,19 ±28,72 | 131,50 ±29,87 | 138,68 ±34,08 | |
| TW4(n=6) | 280,3 ±23,43 | 297,3 ±26,35 | 315,1 ±25,85 | 327,8 ±24,90 | 345,7 ±30,34 | 360,5 ±31,65 | 371,0 ±30,98 | 390,4 ±33,62 | 391,7 ±27,79 | 398,9 ±24,30 | 406,9 ±22,57 | 416,5 ±21,61 | 422,15 ±22,58 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 16,97 ±5,23 | 34,82 ±9,12 | 47,47 ±17,68 | 65,33 ±20,42 | 80,18 ±21,62 | 90,70 ±19,85 | 105,93 ±21,08 | 111,38 ±19,49 | 118,58 ±17,77 | 126,57 ±18,46 | 136,15 ±21,91 | 141,80 ±22,34 | |
| TW6(n=7) | 297,5 ±16,28 | 317,2 ±19,74 | 337,4 ±19,90 | 358,0 ±24,74 | 371,8 ±26,33 | 385,7 ±29,05 | 393,8 ±31,26 | 407,8 ±31,64 | 412,6 ±32,25 | 421,5 ±32,94 | 421,8 ±36,22 | 430,0 ±36,08 | 439,47 ±35,65 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 19,71 ±5,37 | 39,90 ±7,18 | 60,44 ±13,58 | 74,26 ±15,52 | 88,14 ±18,74 | 96,31 ±20,73 | 110,24 ±21,93 | 115,09 ±21,74 | 123,96 ±22,62 | 124,30 ±30,79 | 132,43 ±27,25 | 141,90 ±26,37 | |

Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão e símbolos para significância; C: Grupo controle; W2: suplementado whey proteins 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey proteins 4/kg/dia; W6: suplementado whey proteins 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey proteins 6g/kg/dia; *: $p < 0,05$ comparado com o número da semana correspondente; O valor de p estatístico e a comparação entre grupos está descrito no texto.

| Semanas | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | FINAL |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| TW2(n=9) | 302,5 ±31,66 | 321,7 ±31,43 | 340,8 ±36,92 | 352,1 ±39,91 | 366,2 ±44,47 | 378,1 ±48,71 | 389,2 ±48,37 | 399,1 ±50,55 | 409,1 ±53,97 | 417,8 ±54,93 | 426,7 ±53,69 | 434,0 ±53,98 | 441,23 ±56,74 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 19,24 ±5,38 | 38,31 ±12,02 | 49,64 ±13,75 | 63,73 ±17,38 | 75,58 ±22,24 | 86,70 ±21,74 | 96,64 ±24,73 | 106,59 ±29,34 | 115,28 ±28,56 | 124,19 ±28,72 | 131,50 ±29,87 | 138,68 ±34,08 | |
| TW4(n=6) | 280,3 ±23,43 | 297,3 ±26,35 | 315,1 ±25,85 | 327,8 ±24,90 | 345,7 ±30,34 | 360,5 ±31,65 | 371,0 ±30,98 | 390,4 ±33,62 | 391,7 ±27,79 | 398,9 ±24,30 | 406,9 ±22,57 | 416,5 ±21,61 | 422,15 ±22,58 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 16,97 ±5,23 | 34,82 ±9,12 | 47,47 ±17,68 | 65,33 ±20,42 | 80,18 ±21,62 | 90,70 ±19,85 | 105,93 ±21,08 | 111,38 ±19,49 | 118,58 ±17,77 | 126,57 ±18,46 | 136,15 ±21,91 | 141,80 ±22,34 | |
| TW6(n=7) | 297,5 ±16,28 | 317,2 ±19,74 | 337,4 ±19,90 | 358,0 ±24,74 | 371,8 ±26,33 | 385,7 ±29,05 | 393,8 ±31,26 | 407,8 ±31,64 | 412,6 ±32,25 | 421,5 ±32,94 | 421,8 ±36,22 | 430,0 ±36,08 | 439,47 ±35,65 |
| | S2-S1 | S3-S1 | S4-S1 | S5-S1 | S6-S1 | S7-S1 | S8-S1 | S9-S1 | S10-S1 | S11-S1 | S12-S1 | FINAL-S1 | |
| Δ (g) | 19,71 ±5,37 | 39,90 ±7,18 | 60,44 ±13,58 | 74,26 ±15,52 | 88,14 ±18,74 | 96,31 ±20,73 | 110,24 ±21,93 | 115,09 ±21,74 | 123,96 ±22,62 | 124,30 ±30,79 | 132,43 ±27,25 | 141,90 ±26,37 | |

Continuação do quadro 6: Massa corporal em gramas dos grupos durante as semanas.

Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão e símbolos para significância; C: Grupo controle; W2: suplementado whey proteins 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey proteins 4/kg/dia; W6: suplementado whey proteins 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey proteins 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey proteins 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey proteins 6g/kg/dia; *: $p < 0,05$ comparado com o número da semana correspondente; O valor de p estatístico e a comparação entre grupos está descrito no texto.

Quadro 7: Teste de Peso máximo carregado em gramas.

| Grupo | PRÉ | S2 | S4 | S6 | S8 | S10 | S12 |
|------------|-------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| TC | 287,07 ±9,79 | 315,74 ±11,87 | 338,70 ±15,29 (*PRÉ) | 358,14 ±18,38 (*PRÉ) | 372,57 ±19,33 (*PRÉ,2) | 381,91 ±20,01 (*PRÉ,2) | 396,85 ±20,57 (*PRÉ,2,4) |
| TW2 | 278,88 ±27,19 | 365,16 ±42,06 (*PRÉ)a | 450,24 ±40,15 (*PRÉ,2)a | 469,66 ±23,18 (*PRÉ,2)a | 505,45 ±38,59 (*PRÉ,2,4)a | 536,67 ±27,46 (*PRÉ,2,4,6)a | 540,91 ±28,82 (*PRÉ,2,4,6)a |
| TW4 | 224,95 ±40,97 a,b | 378,04 ±39,56 (*PRÉ)a | 424,96 ±58,19 (*PRÉ)a | 463,23 ±24,99 (*PRÉ,2)a | 493,5 ±32,65 (*PRÉ,2,4)a | 484,8 ±29,54 (*PRÉ,2,4)a,b | 542,76 ±9,58 (*PRÉ,2,4,6,10)a |
| TW6 | 267,68 ±48,27 | 338,82 ±51,02 (*PRÉ) | 404,62 ±33,60 (*PRÉ,2)a,b | 427,21 ±30,81 (*PRÉ,2)a | 462,74 ±50,26 (*PRÉ,2,4)a | 508,48 ±34,72 (*PRÉ,2,4,6)a | 530,82 ±46,28 (*PRÉ,2,4,6,8)a |

Legenda: Dados apresentados em média desvio padrão; TC: Treinamento resitado controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR: suplementado whey protein 6g/kg/dia; *: $p < 0,05$ comparado com o momento ou número da semana correspondente; ^a $p < 0,01$ comparado com o grupo TC; ^b $p < 0,01$ comparado com o grupo TW2. O valor de p estatístico está descrito no texto.

Quadro 8: Massa do músculo gastrocnêmio absoluto (g) e relativo à massa corporal (mg/g) e percentual à massa corporal.

| Variáveis | C (n=10) | W2 (n=11) | W4 (n=10) | W6 (n=7) | TC (n=7) | TW2(n=9) | TW4(n=6) | TW6(n=7) |
|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|------------------------|-----------------------------|
| Gastrocnêmio (g) | 2,607 ±0,269 | 2,447 ±0,142 | 2,351 ±0,220 | 2,187 ±0,218 (a) | 2,531 ±0,233 | 2,610 ±0,147 (d) | 2,561 ±0,149 (d) | 2,858 ±0,237 (d) |
| Gastrocnêmio (mg/g) | 5,612 ±0,419 | 5,398 ±0,430 | 5,593 ±0,347 | 5,318 ±0,246 | 5,588 ±0,421 | 6,084 ±0,425 (d) | 5,821 ±0,524 | 6,643 ±0,379 (abcdeg) |
| % da MC | 0,56 | 0,53 | 0,55 | 0,53 | 0,55 | 0,60 | 0,58 | 0,66 |

Legenda: Dados apresentados em média±desvio padrão; MC: Massa corporal; C: Grupo controle; W2: suplementado whey protein 2g/kg/dia; W4g: suplementado whey protein 4/kg/dia; W6: suplementado whey protein 6g/kg/dia; TC: Treinamento resitido controle; TW2: TR suplementado whey protein 2g/kg/dia; TW4: TR suplementado whey protein 4g/kg/dia; TW6: TR suplementado whey protein 6g/kg/dia; ^a p<0,05 comparado com o grupo controle; ^b p<0,05 comparado com o grupo W2; ^c p<0,05 comparado com o grupo W4; ^d p<0,05 comparado com o grupo W6; ^e p<0,05 comparado com o grupo TC; ^f p<0,05 comparado com o grupo TW2; ^g p<0,05 comparado com o grupo TW4; ^h p<0,05 comparado com o grupo TW6.