

# Universidade Federal do Maranhão Pró-reitoria de Pesquisa, pós-graduação e Inovação Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto Mestrado Acadêmico



# EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE WHEY PROTEINS SOBRE O DANO HEPÁTICO DE RATOS WISTAR SEDENTÁRIOS

Anne Karynne da Silva Barbosa

São Luís 2019

# Anne Karynne da Silva Barbosa

# EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE WHEY PROTEINS SOBRE O DANO HEPÁTICO DE RATOS WISTAR SEDENTÁRIOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão, para defesa para obtenção do título de mestre em saúde do adulto.

Área de concentração: Alterações Endócrinas

Orientador: Dr. Francisco Navarro

Co-orientador: Dr. Antônio Coppi Navarro

Coordenadora: Dra. Maria do Desterro Soares

Brandão Nascimento

São Luís

2019

#### ANNE KARYNNE DA SILVA BARBOSA

# EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE WHEY PROTEINS SOBRE O DANO HEPÁTICO DE RATOS WISTAR SEDENTÁRIOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão, para defesa para obtenção do título de mestre em saúde do adulto.

A Banca Examinadora da Defesa da Dissertação de Mestrado apresentada em sessão pública, considerou o candidato aprovado em 13 / 11 / 2019.

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

**Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto** (Externo ao programa) (Examinador) Universidade Federal do Maranhão

**Prof. Dr. Ana Eugenia Araujo Furtado** (Externo ao programa) (Examinador) Universidade Federal do Maranhão

**Prof. Dr. Rui Miguel da Costa Oliveira** (Examinador) Universidade Federal do Maranhão

# **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho para o meu filho Max Barbosa Cutrim que chegou junto com essa batalha e conquista.

#### **AGRADECIMENTOS**

Á Deus que é fonte de sabedoria, pela dádiva de estar completando esta jornada, mesmo com todos os desafios e as dificuldades encontradas. Agradeço aos meus pais José Veni Barbosa e Maria Isimar da Silva Barbosa e meu irmão José Veni Barbosa Júnior pelo apoio e incentivo.

Ao meu orientador Dr. Francisco Navarro pela dedicação e empenho na realização deste grande trabalho, e pela oportunidade de uma orientação. Ao meu co-orientador Dr. Antônio Coppi Navarro por suas palavras de incentivo, suas orientações que vão para além da esfera acadêmica, pois são verdadeiras lições de vida.

A Faculdade de Educação São Francisco (FAESF), onde me graduei por sua importância, sendo a base para chegar até aqui.

A Universidade Federal do Maranhão (UFMA), por ofertar esse curso de Pós-graduação ampliando os conhecimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto pela oportunidade em obter este título acadêmico. A Drª. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento. Aos professores que fizeram parte dessa caminhada contribuindo com suas bagagens de conhecimento, Dr. Almir Vieira Dibai Filho, Dr. Cristiano Teixeira Mostarda, Dr. Emanuel Pericles Salvador, Drª. Janaina de Oliveira Brito Monzani, Drª. Luciane Maria Oliveira Brito, Dr. Marcelo Souza de Andrade, Drª. Maria do Socorro de Sousa Cartagenes, Dr. Plínio da Cunha Leal, Drª. Sally Cristina Moutinho Monteiro.

A Capes pela bolsa fornecida sob o nº 03447052341 do processo.

Aos laboratórios parceiros, Laboratório de Fisiologia (LEFISIO) na pessoa do professor Dr. Bruno Araújo Serra Pinto, Laboratório de Histologia na pessoa da professora Drª Melaine Mont Alverne Lawall Silva e do professor Dr. Vinicyus Teles Chagas, que se fizeram presentes para as análises e por gentilmente abrirem suas portas para realização desse trabalho. Aos integrantes do Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão (LAFIPEMA), Marcos Roberto Campos de Macedo, Raphael Marques Furtado, Alana Joselle Santiago Silva, Júlio César da Costa Machado, Roger Medeiros Xavier, Milena Silva de Oliveira, Sergio Luiz do Nascimento Júnior, Diego Antonio de Jesus Macau, Elaine Paiva Vieira, Gabriel Moreira Pereira, que tanto cooperaram para meu crescimento acadêmico, pela paciência e convivência nesses anos, não poderia deixar de registrar o quanto foi gratificante.

Em especial a Milena Silva de Oliveira, por sua amizade e companheirismo durante essa trajetória do mestrado.

A graduanda em Educação Física da UFMA, Thaís Alves Tavares Ferreira, pela colaboração na pesquisa.

A todos que participaram para que esse sonho fosse realizado, o meu muito obrigada.

# **EPÍGRAFE**

Todas as vitórias ocultam uma abdicação.

(Simone de Beauvoir)

#### **RESUMO**

Introdução: As Whey proteins, é extraída da porção aguosa do leite durante o processo de fabricação de queijo, totalizando cerca de 20% do teor proteico, possui elevado valor biológico e atributos nutricionais amplamente estudados ao longo dos anos. Objetivo: Investigar no momento final após 12 semanas de suplementação de Whey proteins nas cargas de 2, 4 e 6g/kg/dia se ocorrem alterações nos biomarcadores da função hepática em ratos machos adultos sedentários de linhagem wistar. Materiais e Métodos: O estudo recebeu aprovação pelo comitê de ética em pesquisa com animais (CEUA), da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), sob o número 23115.001161/2017-85, a amostra foi composta por 32 ratos Wistar com peso corporal de 200-250g e idade de 60 dias, divididos em quatro grupos: grupo controle n=10 (C), grupo suplementado 2g/kg/dia n=10 (W2), grupo suplementado 4g/kg/dia n=7 (W4), e grupo suplementado 6g/kg/dia n=5 (W6), suplementados diariamente com Whey proteins através de gavagem, em doses divididas em três sessões, com intervalo de uma hora (tempo médio de esvaziamento gástrico), durante 12 semanas. Resultados e discussão: Quanto aos valores de análises dos biomarcadores. Alanina aminotransferase, Aspartato Aminotransferase, Fosfatase Alcalina, Gama glutamiltransferase, Albumina, Proteína total, Bilirrubina, apesar de alguns grupos ter apresentado diferenças entre si, o resultado geral não apresentou significância estatística, assim como a análise histológica, que também não apresentou significância estatística. Conclusão: Os achados deste estudo apoiam a hipótese afirmativa (H<sub>0</sub>), que apresenta a sugestão de que doses de 2, 4 e 6g/kg/dia de Whey proteins não influenciam na perda da função hepática, respondendo também aos objetivos propostos no presente estudo.

**Palavras-chave:** Whey Proteins. Alanina Aminotransferase. Aspartato Aminotransferase. Fosfatase Alcalina. Gama glutamiltransferase. Albumina. Proteína total. Bilirrubina.

#### **ABSTRACT**

**Introduction:** Whey proteins is extracted from the aqueous portion of milk during the cheese making process, totaling about 20% of the protein content, has high biological value and nutritional attributes widely studied over the years. Objective: To investigate at the final moment after 12 weeks of supplementation of whey proteins at doses of 2, 4 and 6g/kg/day if alterations in liver function biomarkers occurred in male adult sedentary Wistar rats. Materials and Methods: the animal research ethics committee (CEUA) of the Federal University of Maranhão (UFMA) approved the study as number 23115.001161 / 2017-85, the sample consisted of 42 wistar rats with body weight of 200-250g and age of 60 days, divided in four groups: control group n=10 (C), supplemented group 2g/kg/day n=10 (W2). supplemented group 4g/kg/day n=7 (W4), and supplemented group 6g/kg/day n=5 (W6), supplemented through gavage with Whey Proteins was done daily, in divided doses in three sessions, with an interval of one hour (mean time of gastric emptying), during 12 weeks. Results and discussion: As for biomarker analysis aminotransferase, Aspartate Aminotransferase, Alanine Phosphatase, Gamma Glutamyltransferase, Albumin, Total Protein, Bilirubin, although some groups showed differences among themselves, the overall result was not statistically significant, as was the histological analysis, which also did not show statistical significance. Conclusion: The findings of this study partially support the affirmative hypothesis (H<sub>0</sub>), which doses of 2, 4 and 6g/kg/day of whey proteins do not influence the loss of hepatic function, also responding to the objectives proposed in the present study.

**Keywords:** Whey Proteins. Alanine Aminotransferase. Aspartate aminotransferase. Alkaline phosphatase. Glutamyl transferase. Albumin. Total protein. Bilirubin.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Número	Título da figura	Página
1	Composição de Whey proteins	17
2	Benefícios de Whey proteins	18
3	Etapas do experimento	33
4	Gavagem	37
5	Fígado	45
6	Peso corporal intergrupos	48
7	Delta de peso corporal intergrupos	49
8	Consumo relativo de ração intergrupos	50
9	Consumo de Whey proteins intergrupos	51
10	Consumo relativo de proteína da ração	52
11	Consumo de proteína Whey proteins intergrupos	53
12	Consumo de proteína Whey proteins e ração intergrupos	54
13	Consumo relativo de água	55
15	Peso relativo do fígado	57
16	Valores de análises de alanina aminotransferase intergrupos	59
17	Valores de análises de aspartato aminotransferase intergrupos	60
18	Valores de análises de gama glutamil transferase intergrupos	61
19	Valores de análises de fosfatase alcalina intergrupos	62
20	Valores de análises de bilirrubina intergrupos	63
21	Valores de análises de proteínas totais intergrupos	64
22	Valores de análises de albumina intergrupos	65
23	Histologia hepática	66

# LISTA DE TABELAS

Número	Título da tabela	Página
1	Organização e divisão dos grupos	35
2	Massa corporal total e relativa em média, desvio padrão e erro	47
	padrão	
3	Consumo de Whey proteins em média, desvio padrão e erro	51
	padrão	

# LISTA DE QUADROS

Número	Título do quadro	
1	Informação Nutricional do suplemento H.I Whey: Essential	38
	Nutrition®	
2	Informação Nutricional da ração Nuvilab®	38

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇAO	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	Características químicas de Whey proteins	17
2.2	Benefícios de Whey proteins	18
2.3	Estudos com whey proteins analisando três biomarcadores	19
2.4	Estudos com análise de dois biomarcadores	22
2.5	Estudos com whey proteins e análise de um biomarcador	24
2.6	Estudos com análise de um biomarcador ou apenas whey proteins	27
3	HIPÓTESES	29
3.1	Hipótese nula H₀	29
3.2	Hipótese afirmativa H <sub>1</sub>	29
4	OBJETIVOS	30
4.1	Objetivo geral	30
4.2	Objetivos específicos	30
5	MATERIAIS E MÉTODOS	32
5.1	Revisão sistemática	32
5.2	Aspectos éticos	33
5.3	Tipo de estudo	33
5.4	Desenho do estudo	33
5.5	Período e local de estudo	34
5.6	Amostra	34
5.7	Organização dos grupos	34
5.8	Alojamento dos ratos e controle de água e ração	35
5.9	Gavagens e suplementação	36
5.10	Eutanásia	39
5.11	Coleta e análise do sangue	40
5.12	Análises dos biomarcadores de função hepática	40
5.12.1	Análise da Alanina Aminotransferase	40
5.12.2	Análise da Aspartato Aminotransferase	41
5.12.3	Análise da Fosfatase Alcalina	41
5.12.4	Análise da Gama Glutamiltransferase	42

5.12.5	Análise da Albumina	42
5.12.6	Análise da Proteína total	42
5.12.7	Análise da Bilirrubina	43
5.13	Morfometria e Análise histológica	43
5.14	Descarte das carcaças	45
5.15	Processamento estatístico	45
6	RESULTADOS	47
6.1	Massa corporal total e relativa	47
6.2	Delta de peso	49
6.3	Consumo relativo de ração	50
6.4	Consumo de whey proteins	51
6.5	Consumo relativo de proteína da ração	52
6.6	Consumo de proteína whey proteins	53
6.7	Consumo relativo de proteína de whey + ração	54
6.8	Consumo relativo de água	55
6.9	Peso do fígado	56
6.10	Biomarcadores hepáticos	58
6.10.1	Alanina Aminotransferase	58
6.10.2	Aspartato Aminotransferase	59
6.10.3	Gama Glutamiltransferase	61
6.10.4	Fosfatase Alcalina	62
6.10.5	Bilirrubina	63
6.10.6	Proteína total	64
6.10.7	Albumina	65
6.11	Histologia hepática	66
7	DISCUSSÃO	67
8	CONCLUSÃO	74
9	FINANCIAMENTO/BOLSA	75
	Referências	76
	Anexos	81
	Apêndices	84

### 1 INTRODUÇÃO

O fígado é composto por vários tipos diferentes de células, que possuem variadas funções que regulam a função hepática, os hepatócitos são as principais células do fígado, o fígado é responsável pelo metabolismo de diversas substâncias, onde promove a captação e a biotransformação dessas substâncias (Trefts, et al., 2018).

As proteínas são compostas da combinação de 20 aminoácidos, a sequência destes aminoácidos é que definem as principais funções, quer sejam, transporte, regulação, estruturais ou de defesa (Lehninger, Nelson e Cox, 2006).

As Proteínas do soro do leite, também são conhecidas pelo termo em língua inglesa *whey proteins*, é extraída da porção aquosa do leite durante o processo de fabricação de queijo, totalizando cerca de 20% do teor proteico do mesmo, possui elevado valor biológico e atributos nutricionais amplamente estudados ao longo dos anos (Haraguchi et al., 2006; Pennigns et al., 2011).

Whey proteins apresentam em sua composição, quase todos os aminoácidos essenciais, excluindo apenas os aromáticos, não se mostram de forma frequente, porém atendem as necessidades nutricionais de todas as idades dos seres humanos (Sqarbieri, 2004).

Os componentes de *whey proteins* são conhecidos por suas características de benefícios, com efeitos positivos a saúde, pois é uma proteína com grandes propriedades funcionais, apresentando também atividade antioxidante (Kerasioti, et al., 2018).

Aponta-se que *whey proteins* tem maior taxa de absorção, quando comparadas com outras, como a caseína, essa assimilação de forma rápida faz

com que as concentrações plasmáticas dos aminoácidos, culminem em valores altos logo após o seu consumo no organismo humano (Dangin et al., 2001; Kerasioti, et al., 2018).

Comparando as *Whey proteins* com outras proteínas, observa-se que as mesmas têm uma maior taxa de absorção no trato gastro intestinal, e promove maior estimulação de síntese proteica (Poortmans et al., 2012).

Whey proteins são bastante utilizados, pois possui características de benefícios à saúde, como atividades imunomoduladoras, antimicrobianas, antioxidantes, melhorando também a força e a vitalidade dos músculos, pois ajuda no processo de formação de massa muscular no corpo humano (Marshall, 2004; Witard et al., 2014; Kerasioti, et al., 2019).

Monteyne et al., (2016) também destacam que o consumo de *Whey* proteins logo após a realização de exercícios, diminui o consumo de energia na refeição subsequente, aumentando o teor de massa muscular e diminuindo a gordura corporal.

Estudos associando *Whey proteins* com lesões hepáticas induzidas (isquemia e reperfusão) tem mostrado que as proteínas do soro do leite têm efeito hepatoprotetores, prevenindo o estresse oxidativo, e diminuindo a ocorrência de citocinas pró-inflamatórias, e a infiltração de células inflamatórias, constituindo em um alimento imunonutricional (Nii et al., 2014; Chaves, et al., 2018; Al-Dhuayan, 2018).

Mesmo com inúmeros estudos trazendo os benefícios de *Whey proteins*, Gamdzky et al., (2018), encontraram efeitos colaterais associados entre a suplementação de *Whey proteins* e o fígado, analisaram os biomarcadores de inflamação e estresse oxidativo e encontraram que a suplementação de *Whey* 

proteins concentrado aumentou a indução do estresse oxidativo hepático e alterou a morfologia dos hepatócitos nos ratos.

Em estudo relacionando o estado de fígados de ratos induzidos à ingestão crônica de álcool e a suplementação de *Whey proteins*, foi observado que o grupo suplementado com *Whey proteins* teve um efeito protetor, atenuando as lesões hepáticas, pois nos demais grupos foram observados necrose, alterações gordurosas nos hepatócitos e hiperplasia (Radic, et al., 2019).

Embora as *Whey proteins* sejam consideradas, um suplemento sem agravos para o fígado e a reserva de glicogênio hepático durante o exercício, ainda faltam estudos que correlacionem a ingestão das mesmas sem a prática de exercício (Gurgen et al., 2015).

Em dietas contendo *Whey proteins*, o teor de concentração plasmática de citocinas e os marcadores de lesão hepática são menores, do que aquelas que contêm outros tipos de proteína como a caseína (Kume et al., 2006).

A indústria nacional de suplementos nutricionais, obteve crescimento de 10% em relação à produção, no ano de 2016, chegando ao faturamento de cerca de R\$ 1,49 bilhão de reais (Brasnutri, 2017).

A Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para fins especiais e congêneres (2015), afirmam que em cerca de 54% dos domicílios brasileiros, houve ingestão de algum tipo de suplemento, possuindo diversas motivações para o consumo dos mesmos, destacando-se a busca de melhora do quadro de saúde, dentre os mais consumidos, as proteínas apresentaram 30% do total.

Por isso, a American Dietetic Association (2015) afirma que os suplementos fonte de proteína são os mais utilizados pelos praticantes de atividades físicas, com a finalidade de hipertrofia e aumento da massa muscular.

Devido ao aumento na facilidade de acesso ao consumo de *Whey proteins*, onde as pessoas mesmo sem treinar estão buscando cada vez mais aumento de massa muscular, redução da gordura corporal, e com isso, crescendo o consumo de suplementos, em dosagens superiores as recomendadas pela literatura, que são de 0,8g até 1,8g de acordo com as Dietary Reference Intakes (DRIS) (Padovani, et al., 2006).

Visando compreender melhor a ligação entre a ingestão excessiva de doses suplementares de proteína com a função hepática, o presente estudo se faz indispensável para verificar se ocorrem alterações dos biomarcadores relacionados à função hepática em comparação a diferentes dosagens de *Whey proteins*.

# 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 2.1 Características químicas de Whey proteins



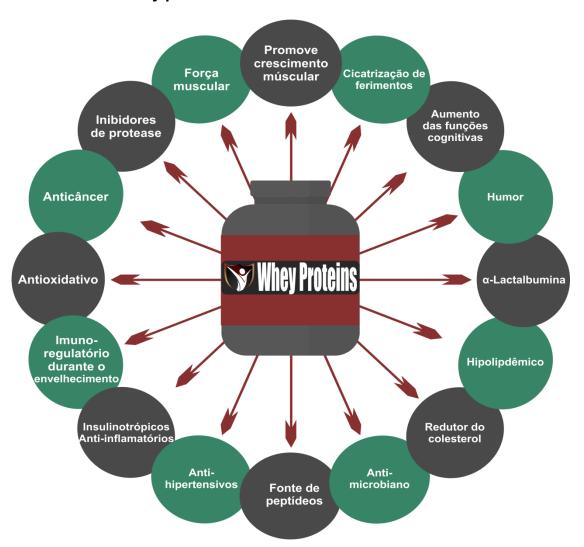
**Figura 1 -** Composição de *Whey proteins* (Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão – LAFIPEMA).

As proteínas do soro do leite são sintetizadas na mama, tendo frações de composição de lactoalbumina e lactoglobulina (Raimondo et al., 2013). As proteínas do soro do leite contêm aproximadamente em média 20% de proteínas totais do leite de vaca, lactoglobulina (50%), lactalbumina (25%), albumina sérica (7%) e imunoglobulinas (5%) (Gurgen, et al., 2015).

As proteínas do soro do leite são compostas aproximadamente por 20% de soro e 80% de caseína. O soro contém cinco proteínas principais, que são lactoglobulina, lactalbumina, glicomacropeptídeo, imunoglobulinas e albumina, a

maioria dessas principais proteínas são sintetizadas na mama, exceto a albumina, (Krissasen, 2007).

#### 2.2 Efeitos de Whey proteins



**Figura 2 -** Benefícios de *Whey proteins* (Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão – LAFIPEMA).

As proteínas do soro do leite são as mais utilizadas por possuírem maiores valores energéticos, devido à grande quantidade de aminoácidos em sua estrutura, *Whey proteins* realizam uma atividade importante na síntese proteica e no metabolismo de carboidratos (Gurgen et al., 2015).

#### 2.3 Estudos com Whey proteins analisando três biomarcadores

Segundo Milani et al., (2016) com 18 ratos machos *Wistar* com idade de 35 dias e peso corporal de 135 gramas, em um estudo crônico de 5 semanas, com três grupos, sendo grupo 1 (G1); grupo 2 (G2 - água); grupo 3 (G3 - 100 mg/kg/dia de *Whey proteins* concentrado + Adoçante Rebaudiosídeo A 26 mg); o resultado obtido no biomarcador Alanina Aminotransferase e para o Aspartato Aminotransferase os resultados encontrados não foram significativos, embora tenha encontrado resultados significativos para glicemia, frutosamina, colesterol e triglicerídeos (o autor não informa o valor de p, apenas informa a significância).

Dessa forma, que *Whey proteins* concentrado e adoçado com Rebausidio A apresentou importância funcional para o controle do metabolismo de ratos diabéticos.

De acordo com Morato et al., (2013a) em estudo com 48 ratos machos *Wistar*, onde os autores não citam a idade dos ratos, com peso corporal de 150g, em um estudo sub-agudo por 1 semana e 2 dias (9 dias), divididos em seis grupos (n=8): G1 - grupo controle, G2 - grupo caseína, G3 - grupo *Whey proteins*, G4 - grupo treino controle, G5 - grupo treino caseína e G6 - grupo e grupo treino *whey proteins*, analisaram Alanina Aminotrasnferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST) e glicose além de outras análises como creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), ácido úrico e ureia. O consumo de *whey proteins* e *Whey proteins* hidrolisado durante 9 dias resultou num aumento na translocação do GLUT-4 para a membrana plasmática, além disso os parâmetros hepáticos de atividade das enzimas (Alanina Aminotransferase e Aspartato

Aminotransferase), também foram avaliados como indicadores de dano muscular, porém não foram observadas diferenças significativas.

Segundo Morato et al., (2013b) em estudo com 49 ratos Wistar machos com idade de 3 semanas e peso corporal de 245±14g, em um estudo crônico, divididos em sete grupos com n de 8 ratos por grupo: G1 - grupo controle (CHO -30% glicose), G2 - grupo *Whey proteins* hidrolisado, G3 - grupo L-isoleucina, G4 grupo L-leucina, G5 - grupo suplementado 50/50 com aminoácidos L-leucina e Lisoleucina, G6 - grupo suplementado com L-isoleucina e L-leucina dipeptidio, G7 grupo L-leucina e L-isoleucina dipeptidio. Neste estudo, analisaram Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST) e glicose, além dessas análises foram feitas creatina quinase (CK) e Lactato desidrogenase (LDH), dos componentes das Whey proteins hidrolisada testados, o aminoácido Lisoleucina aumentou de forma significativa a translocação de GLUT-4 e reduziu as concentrações de glicose no sangue o peptídeo L-leucina e L-isoleucina apresentou níveis mais elevados de insulina no plasma. A concentração de glicose não se mostrou diferente entre os grupos, também não foram observadas diferenças entre creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e marcadores hepáticos.

Os dados obtidos neste estudo mostraram que o peptídeo L-leucina e o aminoácido L-isoleucina foram os componentes que mais contribuíram para o aumento da translocação de GLUT-4, e a entrada de glicose no músculo esquelético, não observando nenhuma alteração nos biomarcadores hepáticos. Esse aumento na translocação de GLUT-4 consistiu em baixas concentrações de glicose sanguíneas, pois a maior translocação de GLUT-4 aumenta a captação de

glicose pelos músculos, diminuindo assim as concentrações sanguíneas e dessa forma não ocorrendo alterações hepáticas.

De acordo com Hamad et al., (2011) em estudo com 35 ratos machos *Wistar* (os autores não informam a idade), de peso corporal de 138,8±18,1g, divididos em 7 grupos com 5 ratos cada: G1 - grupo controle (alimentados com dieta basal), G2 - grupo alimentado com elevado valor de carboidrato e sem gordura, G3 - grupo suplementado com *Whey proteins* isolado e G4 - grupo suplementado com *whey proteins* hidrolisado, G5 - grupo suplementado com α-lactabumina, G6 - grupo suplementado β-lactaglobulina, G7 - grupo suplementado com glicomacropeptídeo, analisaram Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST), glicose e triglicerídeos, encontraram que o peso dos fígados dos ratos alimentados com dieta controle foi semelhante ao grupo de ratos alimentado com elevado valor de carboidrato e sem gordura, e que o peso corporal dos ratos suplementados com *Whey proteins* isolado diminuiu significativamente comparado aos outros grupos.

Encontrando dessa forma, que a administração oral das *Whey proteins* especialmente isolado e concentrado, apresentou um efeito positivo no estado do fígado, em relação aos hepatócitos dos ratos correlacionado com os resultados do exame histológico e da redução das concentrações de triglicerídeos hepáticos, enzimas hepáticas Alanina Aminotransferase e Aspartato Aminotransferase, e glicose sérica.

#### 2.4 Estudos com Whey Proteins analisando dois biomarcadores

Franzen et al., (2016) em estudo com 24 ratos machos *Wistar* que tinham idade de 80 dias e peso corporal total de 200-250g, em um estudo crônico randomizado de 8 semanas divididos em 3 grupos: G1 - grupo controle (dieta padrão), G2 - grupo dieta com *Whey proteins* concentrado e G3 - grupo dieta de cafeteria, com n de 8 ratos por grupo, quanto aos resultados encontrados, o grupo de dieta de cafeteria teve um ganho significativo em relação ao peso inicial (p<0,001) do próprio grupo, o grupo que recebeu a dieta de cafeteria também teve maior ganho de peso em relação aos outros grupos, em relação ao grupo controle (p<0,01) e em relação ao grupo de *Whey proteins* concentrado (p<0,001).

O grupo de dieta com *Whey proteins* concentrado não apresentou ganho de peso significativo em relação ao grupo controle; os valores encontrados de Alanina Aminotransferase e Aspartato Aminotransferase não foram significativos; não foram encontradas diferenças entre as concentrações basais e ao fim do experimento de todos os grupos em relação a ureia e creatinina.

Estes dados sugerem que baixas doses de *Whey proteins* concentrado ingeridas de maneira homogênea na dieta em todas as refeições pode ser uma estratégia nutricional relevante no tratamento de pacientes predispostos a obesidade, obesos e pacientes pré-diabéticos ou com síndrome metabólica, os autores não informam o valor da dose, mas sugerem que 10% de *Whey proteins* concentrado traz diversos benefícios como controle de peso em um pequeno intervalo de tempo de 8 semanas

De acordo com Gurgen et al., (2015) em estudo com 30 ratos *Wistar* jovens machos, com peso corporal de 170g, em um estudo crônico, durante 4 semanas,

divididos em 3 grupos: G1 - grupo controle, G2 - grupo de *Whey proteins* a curto prazo (durante 5 dias) e G3 - grupo de *Whey proteins* a longo prazo (4 semanas), com 79,3g/100g nos grupos de *Whey proteins*. Foram encontradas diferenças significativas nas concentrações séricas de Aspartato Aminotransferase em todos os grupos (p<0,01), foram encontradas também diferença significativa nas concentrações de Alanina Aminotransferase no grupo de *Whey proteins* a longo prazo (p<0,01), o grupo *whey proteins* a longo prazo teve maiores valores de Alanina Aminotransferase (129,44±16,72 U/L) e Aspartato Aminotransferase (45,00±10,39 U/L), geralmente os valores maiores dessas transaminases acontecem em hepatites ou em carcinoma hepático, os valores maiores de Alanina Aminotransferase podem indicar colestase ou hepatite.

Segundo Kume et al., (2006) em estudo com ratos machos *Sprague Dawley* com idade de 6 semanas, e peso corporal de 200-220g, em um estudo crônico por 2 semanas e um dia (15 dias), divididos em dois grupos: G1 - grupo dieta modificada com fonte proteica de caseína e G2 - grupo dieta com proteína do soro do leite, analisaram Alanina Aminotrasnferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST), Bilirrubina, Interleucina 1 (IL-1) e Interleucina 6 (IL-6), os autores não encontraram diferenças significativas entre os grupos.

Os resultados indicam que a suplementação de proteína do soro do leite impede o desenvolvimento de hepatite induzida, além disso a proteína do soro do leite também inibe a produção de citocinas inflamatórias Interleucina 1 (IL-1) e Interleucina 6 (IL-6), cuja inibição pode ter um efeito hepatoprotetor.

#### 2.5 Estudos com Whey proteins e análise de um biomarcador

Morifuji et al., (2011) em estudo com 21 ratos *Sprague Dawley* machos e peso corporal de 150g, em um estudo agudo, com suplementação de *Whey proteins* (onde o autor não informa a dosagem utilizada), divididos em três grupos com n=7 em cada grupo: G1 - grupo água, G2 - grupo glicose, G3 - grupo glicose + *Whey proteins*, analisaram a glicose, além de ácidos graxos livres e insulina. A insulina plasmática e os aminoácidos (aminoácidos totais, aminoácidos essenciais e BCAAs) aumentaram significativamente após ingestão de carboidratos com *Whey proteins* hidrolisado, comparados à ingestão de água ou glicose apenas. A ingestão de carboidrato com proteína antes do exercício também foi associada a uma diminuição significativa da concentração plasmática de ácidos graxos livres em comparação com a ingestão de água ou apenas glicose, (porém o autor não cita o valor de p). Não houve diferença significativa das concentrações de glicose nos três grupos, estes dados sugerem que a ingestão de carboidratos com *Whey proteins* ativa as proteínas no músculo esquelético que determinam a síntese de glicogênio e captação de glicose durante o exercício.

Devido a isso é importante manter a reserva de glicogênio, pois a falta dessa reserva se relaciona com a fadiga durante os exercícios, por isso foi feita a investigação com a suplementação pré-treino, para observar sobre a captação da glicose durante o exercício, a fim de diminuir o esgotamento do glicogênio provocado pelo mesmo, pois se o glicogênio permanece inalterado a fadiga diminui visto que o corpo estaria utilizando outras fontes de energia.

De acordo com Haraguchi et al., (2009) que em estudo com 32 ratos Fischer adultos, e peso corporal de 209 gramas, em um estudo crônico durante 8 semanas, com 8 ratos por grupo, sendo: grupo 1 (G1 - Dieta padrão); grupo 2 (G2 - Dieta hipercolesteromiante); grupo 3 (G3 - Dieta modificada com proteína do soro do leite); grupo 4 (G4 - Dieta hipercolesteromiante com substituição da caseína pelas proteínas do soro do leite) encontraram que as proteínas do soro do leite contribuíram de maneira significativa para o aumento na atividade da Aspartato Aminotransferase, e também foi encontrado que a atividade da fosfatase alcalina foi afetada pelo tratamento com proteínas do soro do leite; o resultado encontrado através da associação de dieta hipercolesteromiante não foi significativo. Os grupos que receberam a dieta hipercolesterolemiante consumiram menos alimento, mesmo com o maior ganho de peso. As outras análises feitas foram colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL colesterol), triacilgliceridios, proteínas totais, albumina, ureia e creatinina. A concentração de creatinina foi maior através da dieta hipercolesterolemiante, o peso, dos rins foram equivalentes nos grupos, já em relação ao peso dos fígados observou-se um aumento do tamanho apenas nos grupos que receberam a dieta hipercolesterolemiante. Nesse mesmo grupo, recebeu dieta que hipercolesterolemiante, observou-se aumento na atividade das hepáticas, pois dietas ricas em gordura favorecem o aumento no estresse oxidativo hepático e com whey proteins ocasionou em um efeito benéfico em relação ao estresse oxidativo hepático, além de redução na concentração da albumina e fosfatase alcalina, o que corrobora com o efeito protetor ao fígado.

Segundo Bouthegourd et al., (2002) em estudo com 24 ratos (os autores não informam a linhagem, idade ou peso), em um estudo crônico por 5 semanas divididos em quatro grupos com n=6 em cada grupo: G1 - grupo em jejum pré-

exercício, G2 - grupo glicose pré-exercício, G3 - grupo dieta enriquecida com proteína do leite, G4 - grupo dieta enriquecida com lactolbumina.

Neste estudo, foram analisadas a concentração de glicose, lactato e ureia. A participação relativa da oxidação lipídica no gasto energético durante o exercício foi significativamente maior no grupo que recebeu a dieta enriquecida com lactolbumina (CPL) (8,7%) do que em todos os outros grupos, e maior no grupo que recebeu a dieta enriquecida com proteína do soro do leite (WMP) (6,4%) do que no jejum (3,6%), ou grupos suplementados com glicose (2,0%).

Estes dados sugerem que a ingestão de proteína antes do exercício melhora a oxidação lipídica, mas só isso não seria o suficiente para reduzir gordura em longo prazo nos ratos, isso porque o lipídio estaria sendo utilizado durante o exercício, mas a alimentação noturna os permitia se recuperar produzindo maior efeito na resposta metabólica dos aminoácidos.

#### 2.6 Estudos com análise de um biomarcador ou apenas whey proteins

Kim et al., (2015) em estudo com 60 ratas fêmeas *Sprague Dawley* com idade de 10 semanas, (os autores não informam o peso) em um estudo crônico por 6 semanas, divididos em 6 grupos, G1 - grupo positivo (*sham*), G2 - grupo negativo (controle), G3 - grupo 10g/kg de *Whey proteins*, G4 - grupo 20g/kg de *Whey proteins*, G5 - grupo 30g/kg de *Whey proteins* e G6 - grupo 40g/kg de *Whey proteins*.

Neste estudo, analisaram o cálcio entre os grupos avaliando o efeito da proteína do soro do leite com efeito benéfico à prevenção de osteoporose, observaram que o peso corporal foi significativamente menor (porém o autor não

informa o valor de p). no grupo *sham* comparado com os demais grupos, este estudo sugere que *Whey proteins* melhora a perda óssea induzida, em relação à força e a densidade do fêmur foi observado aumento em ratos suplementados com *Whey proteins* durante 6 semanas.

Freudenberg et al., (2012) em um estudo com 6 camundongos C57BI machos de 10 semanas de idade, (os autores não informam o peso) em um estudo crônico de 20 semanas, divididos em três grupos, G1 - Grupo com dieta isoenergetica com alto teor de gordura, G2 - Grupo com dieta experimental com 10% de proteína adequada e 50% de *Whey proteins*, G3 - Grupo dieta com proteína adequada suplementada com L-leucina, analisaram glicose, insulina e ácidos graxos, encontraram que os camundongos alimentados com dieta de *whey proteins* e L-leucina ganharam menos peso que os camundongos que não foram suplementados com *Whey proteins*, e que a massa dos camundongos suplementados com *Whey proteins* foi significativamente reduzida (porém o autor não informa o valor de p) e a ingestão de alimentos foi significativamente menor nos camundongos suplementados com *Whey proteins* e com proteína adequada suplementada com L-leucina, os resultados sugerem que a leucina são semelhantes aos efeitos de *Whey proteins* na prevenção do desenvolvimento de obesidade e síndrome metabólica.

De acordo com Sidiqqui et al., (2008) com 32 ratos *Wistar* machos (os autores não informam a idade) com peso corporal de 175-190g, em um estudo crônico por 12 semanas, divididos em quatro grupos: G1 - grupo com dieta rica em gordura e baixa vitamina D, G2 - grupo com dieta rica em gordura e rica em vitamina D, G3 - grupo com dieta rica em sacarose e baixa vitamina D, G4 - grupo com dieta rica em sacarose e rica em vitamina D.

Neste estudo, analisaram os ácidos graxos, e a massa de gordura corporal foi significativamente menor nos grupos que consumiram dieta rica em Vitamina D em comparação com a dieta pobre em vitamina D.

Além disso, analisaram alterações no fígado, e observaram que a oxidação de glicose no fígado estava elevada no grupo de dieta pobre em vitamina D quando comparado aos outros grupos, observando que o consumo de dieta pobre em vitamina D leva ao aumento de oxidação de glicose hepática, isso acontece porque as dietas que possuem em sua composição produtos lácteos como as proteínas do soro do leite, auxiliam no processo de regulação das atividades hepáticas.

Kelly et al., (2003) em um estudo crônico com 21 ratos machos *Wistar* com idade de 4 semanas, pesando 77,2g divididos em três grupos com 7 ratos cada (n=7), G1 - grupo controle, G2 - grupo 10g/kg de proteína do soro do leite, G3 - grupo 20g/kg de proteína do soro do leite.

Neste estudo, analisaram a urina e observaram que as concentrações de mRNA do fator de crescimento semelhante a insulina foi significativamente maior que nos ratos alimentados com a dieta de proteína do soro do leite quando comparados ao grupo controle (porém o autor não informa o valor de p).

Estes resultados sugerem que a proteína do soro do leite não pode aumentar a taxa de crescimento óssea em ratos em fase de crescimento quando alimentados com dieta com restrição de cálcio, devido ao curto tempo ao qual foram submetidos à suplementação, sendo este de 7 semanas, sugerindo que talvez com um tempo maior de alimentação com este tipo de dieta possa alcançar outros valores.

# **3 HIPÓTESES**

# 3.1 Hipótese nula H₀

Doses de 2, 4 e 6g/kg/dia de *Whey proteins* influenciam na perda da função hepática, alterando os biomarcadores de função hepática em modelo experimental.

# 3.2 Hipótese afirmativa H<sub>1</sub>

Doses de 2, 4 e 6g/kg/dia de *Whey proteins* não influenciam na perda da função hepática e nem altera os biomarcadores de função hepática em modelo experimental.

#### **4 OBJETIVOS**

#### 4.1 Objetivo geral

Avaliar após 12 semanas de suplementação de *Whey proteins* em doses de 2, 4 e 6g/kg/dia se ocorrem danos hepáticos em modelo experimental.

#### 4.2 Objetivos específicos

Identificar após 12 semanas de suplementação de *Whey proteins* em doses de 2, 4 e 6g/kg/dia se ocorrem danos hepáticos através da mensuração de concentrações em biomarcadores por meio de dosagens bioquímicas em modelo experimental.

Identificar após 12 semanas de suplementação de *Whey proteins* em doses de 2, 4 e 6g/kg/dia se ocorrem alterações na função hepática através da mensuração de concentrações em biomarcadores por meio de dosagens bioquímicas em modelo experimental.

Analisar após 12 semanas de suplementação de *Whey proteins* em doses de 2, 4 e 6g/kg/dia se ocorrem danos hepáticos por meio de análises histológicas em modelo experimental.

# **5 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### 5.1 Revisão Sistemática

Essa revisão sistemática foi baseada nas publicações das seguintes bases de dados: o portal de Periódicos Capes (http://www-periodicos-capes-gov-br); Lilacs (http://bvsalud.org/); Scielo.org (http://scielo.org); Scielo.br (http://www.scielo.br/) Dialnet (https://dialnet.unirioja.es/); Redib (https://www.redib.org/) e Medline (http://bvsalud.org/).

Para isto verificou-se a adequação dos seguintes termos: *Whey proteins*, Alanina Aminotransferase, Aspartato Aminotransferase, Fosfatase Alcalina, Gama glutamiltransferase, nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS).

Em seguida ocorreu a descrição obedecendo aos seguintes procedimentos: autor (es) e data, objetivo do estudo, o tamanho da amostra e suas características, tais como, linhagem, idade e massa corporal, os procedimentos experimentais adotados, em seguida os resultados e conclusão do estudo.

Para escolha dos artigos, utilizaram-se alguns critérios, como serem de livre acesso, trabalhar com a temática utilizada no presente estudo. Após utilizar os critérios de inclusão e exclusão, ficaram 15 estudos para a revisão.

#### 5.2 Aspectos éticos

Os ensaios biológicos foram baseados no Guia de Uso e Cuidados com Animais Laboratoriais do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e o protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) através do protocolo de número 23115.001161/2017-85 da Universidade Federal do Maranhão-UFMA.

#### 5.3 Tipo de estudo

No presente estudo foi adotado delineamento de pesquisa experimental com grupos randomizados (Hoerauf et al., 2019).

#### 5.4 Desenho do estudo

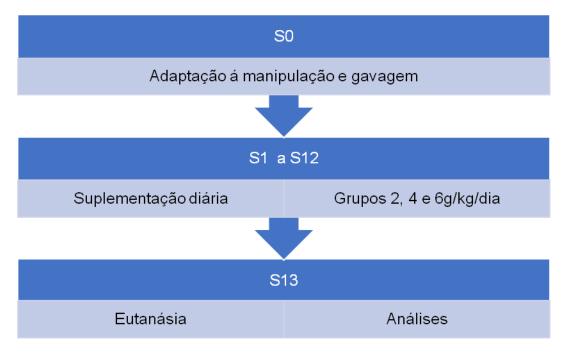


Figura 3 - Etapas do experimento. **Legenda:** S0 - Semana 0; S1 - Semana 1; S12 - Semana 12; S13 - Semana 13.

#### 5.5 Período e local de estudo

A realização da pesquisa experimental aconteceu no Biotério Setorial no horário de 12:30h ás 18:00h, localizado no prédio de Pós-graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), na Cidade Universitária Dom Delgado, localizada no campus Bacanga, n-1966, da Universidade Federal do Maranhão-UFMA, em São Luís-MA no período de 14 semanas em 2018.

#### 5.6 Amostra

O presente estudo foi realizado com 32 Rattus novergicus albinus machos da linhagem Wistar não possuindo alterações patológicas e morfológicas com idade inicial de 60 dias e massa corporal aproximada de 286g ±31,01, provenientes do Biotério central da Universidade Federal do Maranhão-UFMA. Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos.

#### 5.7 Organização dos grupos

Os 32 ratos foram alocados em quatro grupos, sendo os grupos: C controle não suplementado (n=10), S2 - suplementado com 2g/kg/dia (n=10), S4 suplementado com 4g/kg/dia (n=7), S6 - suplementado com 6g/kg/dia (n=5), conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 1 - Organização e divisão dos grupos.

Grupo	Suplementação
С	Não suplementado
W2	2g/kg/dia
W4	4g/kg/dia
W6	6g/kg/dia

Legenda: C (controle); W2 (grupo suplementado com 2g/kg/dia); W4 (grupo suplementado com 4g/kg/dia); W6 (grupo suplementado com 6g/kg/dia).

#### 5.8 Alojamento dos ratos e controle de água e ração

Os ratos permaneceram em condições higiênicas em gaiolas coletivas, mantidos em uma sala climatizada com controle de temperatura entre 24°C a 28°C, e ciclo alternado de claro/escuro de 12 horas. Foram alimentados com ração balanceada padrão para roedores (Nuvilab®) e água ad libitum.

A ração foi administrada de forma ad libitum e retirada apenas uma hora antes do início das gavagens, diariamente era feita a pesagem da ração restante de cada caixa para mensurar o consumo e feita à reposição no valor de 300g, a pesagem foi feita em balança digital (Weblaborsp® 5200g).

A água era filtrada proveniente do Biotério setorial, seguindo as recomendações de tratamento adequadas, e foi fornecida ad libitum e retirada apenas uma hora antes do início das gavagens, diariamente era feita a mensuração do volume da água restante em mL de cada caixa para mensuração do consumo e feita a troca de toda a água dos bebedouros totalizando 1000mL, a mensuração foi feita em proveta graduada (Uniglass® 500mL).

# 5.9 Gavagens e suplementação

A adaptação das gavagens foi realizada na semana 0 diariamente, logo após a chegada dos ratos ao biotério setorial, onde eles também estavam se adaptando ao local e as gaiolas.

Os ratos foram contidos através de contenção manual no dorso imobilizando os mesmos, para adaptação à técnica de manipulação.

Para a realização das gavagens foram utilizadas seringas milimétricas com agulha específica para este tipo de procedimento com ponta bola (Bonther®), objetivando não causar danos ao esôfago dos ratos, onde a mesma foi inserida de forma gradual através da boca. A introdução da agulha na cavidade oral dos

ratos foi realizada quando não se sentia mais relutância por parte dos ratos, para que ela não penetrasse e fizesse furo na traqueia (Neves, et al., 2013).

Cada gavagem teve um volume de 2mL para cada 100g de peso corporal do rato, conforme o estipulado para soluções aquosas (Andersen et al., 2004). O volume total da gavagem teve reajuste semanal conforme o peso atualizado do rato. Logo o volume final diário foi correspondente às variações do peso corporal do rato.

As gavagens foram realizadas diariamente durante as doze semanas do experimento, correspondendo a dosagem específica para cada grupo, sendo de 2, 4 e 6g/kg/dia em doses divididas em três sessões com total de 5mL, com intervalo de uma hora (tempo médio de esvaziamento gástrico), conforme descrito por Andersen et al., (2004). O peso dos ratos foi calculado semanalmente para adequação da dose da suplementação.

As doses foram administradas via gavagem de solução de Whey proteins concentrado dissolvido em água, com concentração comum de 0,1189g/mL do suplemento (H.I Whey: Essencial nutrition ®) que corresponde a 0,166g/mL de proteínas do soro do leite, Quadro 1).

Apenas o grupo controle recebeu gavagem somente com água, a oferta de água no grupo controle foi aplicada na quantidade de 1g/kg/dia do peso corporal do rato através da gavagem, totalizando 5mL (Vitorino, 2009).



**Figura 4** - Gavagem. (Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão).

Quantidade por porção (22 gramas)			
Nutriente	g/mg/porção	Valor diário (%)	
Carboidrato	0g	0%	
Proteínas	22g	29%	
Gorduras totais	0g	0%	
Fibra alimentar	0g	0%	
Sódio	88mg	4%	
Cálcio	118mg	12%	
Fósforo	63mg	9%	
Magnésio	22mg	8%	

Quadro 2 - Informação Nutricional da ração Nuvilab®

Quantidade por kg		
Nutriente	g/mg/kg	
Umidade	120g	
Proteína bruta	220g	
Extrato etéreo	40g	
Material mineral	90g	
Fibra bruta	70g	
Cálcio	10-14g	
Fósforo	8.000mg	
Vitamina A	25.500 UI	
Vitamina D3	2.100 UI	
Vitamina E	60 UI	
Vitamina K3	12,5mg	
Vitamina B1	14,4mg	
Vitamina B2	11mg	
Vitamina B6	12mg	
Vitamina B12	60mcg	
Niacina	60mg	

Pantoten de cálcio	112mg
Ácido fólico	6mg
Biotina	0,26mg
Colina	2.400mg
Sódio	2.700mg
Ferro	50mg
Manganês	60mg
Zinco	60mg
Cobre	10mg
lodo	2mg
Selênio	0,05mg
Cobalto	1,5mg
Fluór	80mg
Lisina	14g
Metionina	5.000mg
Aditivo BHT	100mg

# 5.10 Eutanásia

Vinte e quatro horas após os procedimentos experimentais finais e com jejum de 12 horas, os ratos foram eutanasiados através de injeção intraperitoneal com cetamina (70mg/kg) e xilasina (10mg/kg) de acordo com Neves et al., (2013). Estando de acordo com as diretrizes da prática de eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal.

# 5.11 Coleta e análise do sangue

Após a eutanásia, a coleta de sangue foi realizada por ensaguinação por decapitação em guilhotina (Beira-Mar®), sendo o sangue colocado em tubo especifico para separação do soro (Vacutainer®), após coletada, a amostra foi refrigerada (4 °C) foi centrifugada a 3000rpm por 10 minutos em tubos EDTA para separação do plasma, e posteriormente armazenado e mantidos em refrigeração (-20 °C) até a análise (Tournier, et al., 2015).

Em seguida o soro foi analisado bioquimicamente na leitora de microplaca automatizada (Leitora Biotek®) para quantificação da concentração dos biomarcadores.

# 5.12.1 Análise da Alanina Aminotransferase (ALT)

Foi realizada a partir de adaptações de volume, seguindo as instruções de kits comerciais Labtest, a determinação da atividade enzimática foi realizada utilizando o método piridoxal fosfato, seguindo o método colorimétrico de Reitman e Frankel (1957).

Para a determinação do biomarcador Alanina Aminotransferase foi realizado teste colorimétrico, ajustando o zero do fotômetro em 340nm com água destilada, foram realizadas duas leituras em absorbância de 340nm, a absorbância obtida foi utilizada em equação específica e o resultado obtido foi multiplicado por 1761 (Labtest® - ALT/GPT liquiform Ref.108).

# 5.12.2 Análise da Aspartato Aminotransferase (AST)

Foi realizada a partir de adaptações de volume, seguindo as instruções de kits comerciais Labtest, a determinação da atividade enzimática foi realizada utilizando o método piridoxal fosfato, seguindo o método colorimétrico de Reitman e Frankel (1957).

Para a determinação do biomarcador Aspartato Aminotransferase foi realizado teste colorimétrico, ajustando o zero do fotômetro em 340nm com água destilada, foram realizadas duas leituras em absorbância de 340nm, a absorbância obtida foi utilizada em equação específica e o resultado obtido foi multiplicado por 1730 (Labtest® - AST/GOT liquiform Ref.109).

## 5.12.3 Análise da Fosfatase Alcalina

Foi realizada a partir de adaptações de volume, seguindo as instruções de kits comerciais Labtest, a determinação da fosfatase alcalina foi realizada utilizando o método cinético de ponto fixo e medição de ponto final, seguindo o método cinético de Moss (1982).

Para a determinação do biomarcador fosfatase alcalina foi realizado teste cinético, colocando os tubos de ensaio em banho maria, foi realizada uma leitura em absorbância de 590nm, a absorbância obtida foi utilizada em equação específica e o resultado obtido foi multiplicado por 37 (Labtest® - Fosfatase alcalina liquiform Ref.40).

#### 5.12.4 Análise da Gama Glutamiltransferase

Foi realizada a partir de adaptações de volume, seguindo as instruções de kits comerciais Labtest, a determinação da gama glutamiltransferase foi realizada utilizando o método cinético contínuo, seguindo o método cinético de PetitClerc, et al., (1980).

Para a determinação do biomarcador gama glutamiltransferase foi realizado teste cinético, foi realizada uma leitura em absorbância de 405nm, a absorbância obtida foi utilizada em equação específica e o resultado obtido foi multiplicado por 93 (Labtest® - Gama GT liquiform Ref.105).

## 5.12.5 Análise da Albumina

Foi realizada a partir de adaptações de volume, seguindo as instruções de kits comerciais Labtest, a determinação da albumina foi realizada utilizando o método de ligação com corantes em sistema de determinação de ponto final, seguindo o método de Bartholomew (1966), a reação foi a partir da propriedade da albumina de ligar-se a corantes, a cor formada foi medida colorimetricamente em 630nm, a absorbância obtida foi utilizada em equação específica para determinação da concentração (Labtest® - Albumina liquiform Ref.19).

#### 5.12.6 Análise da Proteína total

Foi realizada a partir de adaptações de volume, seguindo as instruções de kits comerciais Labtest, a determinação da proteína total foi realizada por sistema colorimétrico por reação de ponto final, por meio de reação dos íons de cobre em meio alcalino (reagente de biureto), com as ligações peptídicas séricas formando um cromóforo de cor púrpura.

Para a determinação da proteína total foi realizada uma leitura em absorbância de 545nm, a absorbância obtida foi utilizada em equação específica para determinação da proteína (Labtest® - Proteínas totais liquiform Ref.99).

## 5.12.7 Análise da Bilirrubina

Foi realizada a partir de adaptações de volume, seguindo as instruções de kits comerciais Labtest, a determinação da bilirrubina foi realizada u por sistema colorimétrico por reação de ponto final, para a determinação do biomarcador bilirrubina, foi realizada uma leitura em absorbância de 405nm, a absorbância obtida foi utilizada em equação específica e o resultado obtido foi multiplicado por 4,84 (Labtest® - Bilirrubina liquiform Ref.31).

## 5.13 Morfometria e análise histológica

Após a eutanásia e coleta do sangue, foi extraído o fígado de todos os ratos, imediatamente após a dissecação, os fígados foram pesados em balança de precisão de 0,1g (Marte® AD 200), e em seguida armazenados em recipientes específicos e individuais sendo acondicionados em formol tamponado 10% por 48 horas e álcool 70%, transferido para frasco com etanol, diafanizado em xilol e emblocado em parafina até o momento do início da histologia.

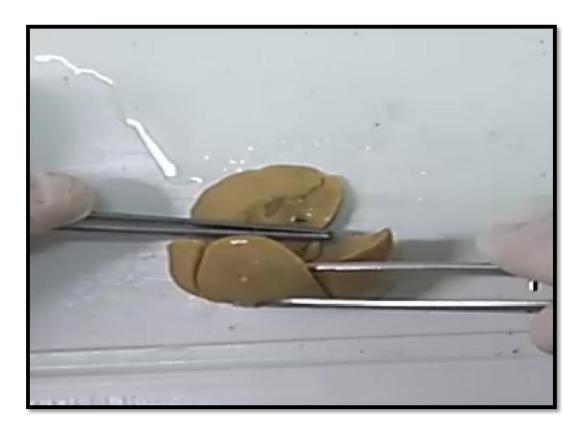
Para os procedimentos de análise histológica foram realizados cortes de forma transversal no maior lóbulo do fígado e colocados em banho de álcool 70% por 24 horas.

Depois de realizados os procedimentos de corte, os fígados foram armazenados em cassetes histológicos devidamente identificados através de numeração de acordo com cada grupo e rato. Foram fixados em parafina, para preparo de blocos de parafina a 75 °C. Ao final desse processo, os blocos de parafina ficaram dispostos em um freezer a -20 °C por 24 horas.

Em seguida, foram realizados os cortes em micrótomo manual, com 5 μm de espessura, os cortes em parafina foram dispostos em banho Maria a 50 °C para a montagem das lâminas, e posteriormente foram corados com hematoxilina e eosina.

Após isso, realizou-se a colagem da lamínula, sendo fixada com o reagente Entellan (Merck®) sob a lâmina. As lâminas devidamente numeradas foram confeccionadas em duplicata, com duas bordas hepáticas em cada.

Os danos hepáticos foram avaliados por mensuração de lesões nos hepatócitos, através de leitura em microscópio óptico (Olympus CX31) seguindo o score de Kleiner et al., (2005), que agruparam as características histológicas em cinco, sendo elas (fibrose, esteatose, lesão hepatocelular, inflamações e características diversas). Em software específico para análise de imagem (Carl Zeiss®) foram determinados a existência de lesões.



**Figura 5 -** Fígado. (Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão).

# 5.14 Descarte das carcaças

As carcaças dos ratos foram mantidas sob refrigeração (4 °C) quando eliminadas em até 24 horas ou sob congelamento (-10 a -20 °C) quando descartadas de 24 a 72 horas em sacos plásticos vedados, sendo encaminhadas ao Biotério Central da UFMA para que fosse feita a incineração.

#### 5.15 Processamento estatístico

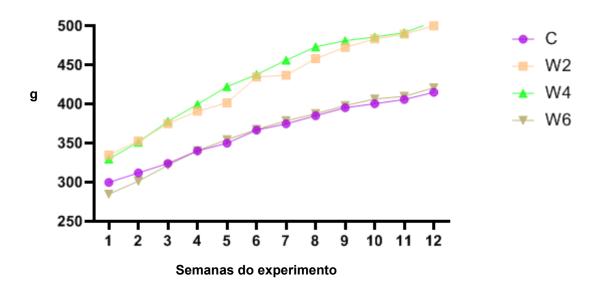
Todas as variáveis foram testadas quanto à distribuição da normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Para a comparação entre medidas repetidas entre as semanas em cada grupo separadamente, foi aplicado o teste de ANOVA one way post-hoc de Tukey adotando os valores significativos de p<0,05. Para a comparação de uma variável intergrupos ao longo do tempo, foi utilizado o teste ANOVA two way post-hoc de Tukey adotando valores significativos de p<0,05. O software que foi utilizado para as análises foi o Graphpad Prism® versão 8.

#### 6. RESULTADOS

# 6.1 Massa corporal total e relativa

Conforme ilustrado na figura 6 (página 48), foram encontradas as médias maiores em S12 em todos os grupos indicando progresso dessa variável ao final das 12 semanas de experimento quando comparada a S0.

Foram encontradas diferenças significativas entre todos os grupos, entre C e W2 (<0,0001), entre C e W4 (<0,0001), entre C e W6 (p<0,0080), entre W2 e W6 (<0,0001), entre W2 e W6 (<0,0001), entre W4 e W6 (<0,0001), exceto entre os grupos W2 e W4 (0,6468).



**Figura 6 -** Peso corporal intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

## 6.2 Delta de peso

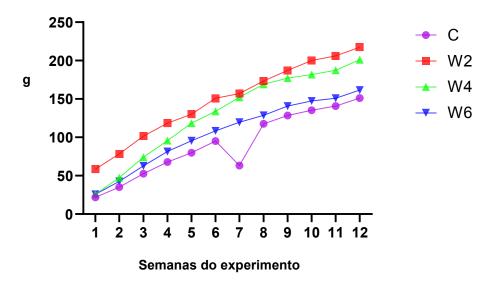


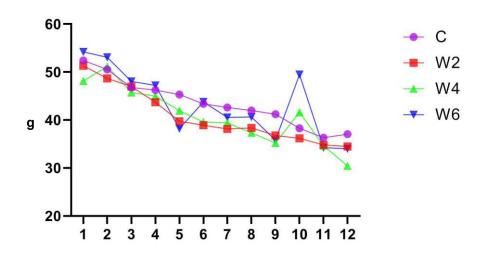
Figura 7 - Delta de Peso corporal intergrupos.

Legenda: C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

O delta de peso foi encontrado através da diminuição do peso de todas as semanas pela semana 0.

Em relação ao delta de peso corporal, ilustrado na figura 7, foram encontradas diferenças significativas na maioria dos grupos, sendo entre os grupos C e W2 (p<0,0001), entre os grupos C e W4 (p<0,0001), entre os grupos W2 e W6 (p=0,0001), entre os grupos W4 e W6 (p=0,0263), exceto entre os grupos C e W6 (p=0,1831), entre os grupos W2 e W4 (p=0,1339).

# 6.3 Consumo relativo de ração



#### Semanas do experimento

Figura 8 - Consumo relativo de ração intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

Conforme observado nas tabelas (16, 17, 18 e 19) dos apêndices dispostos nas páginas (96, 97, 98 e 99) e ilustrados na figura 8, os valores de consumo relativo de ração intergrupos, observou-se que houve diferença significativa apenas entre os grupos C e W2 (p=0,0093), entre C e W4 (p=0,0381), os demais grupos não apresentaram diferença significativa, entre os grupos C e W6 (p=0,9976), entre os grupos W2 e W4 (p=0,9973), entre os grupos W2 e W6 (p=0,1253), entre os grupos W4 e W6 (p=0,2148).

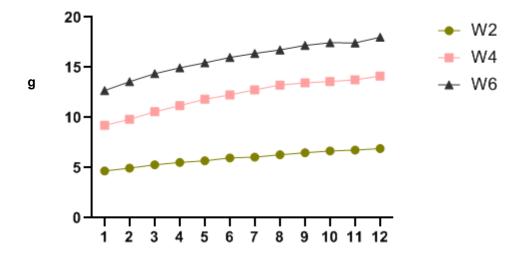
# 6.4 Consumo de Whey proteins

Tabela 3 - Consumo de Whey proteins em média, desvio padrão e erro padrão.

Grupos	S0	S12
С	Não suplementado	Não suplementado
W2	$4,68 \pm 0,20$	6,91 ± 0,57
	EP - 0,06	EP - 0,18
W4	$9,23 \pm 0,37$	$14,14 \pm 0,76$
	EP - 0,12	EP - 0,24
W6	12,69 ± 1,25	18,00 ± 1,52
	EP - 0,39	EP - 0,48

Legenda: S0 - Semana 0; S12 - Semana 12; EP - Erro padrão.

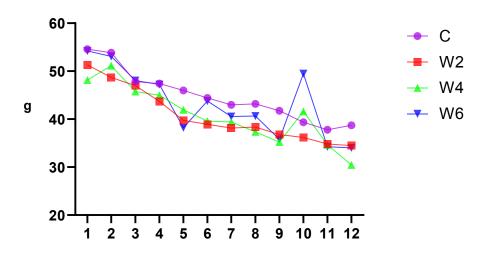
Conforme apresentado no quadro 3 e ilustrado na figura 9, o consumo de *whey proteins* se mostrou aumentado na semana final (S12) com médias maiores em todos os grupos suplementados quando comparados a S0.



Semanas do experimento
Figura 9 - Consumo de Whey proteins intergrupos.

**Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

## 6.5 Consumo relativo de proteína da ração



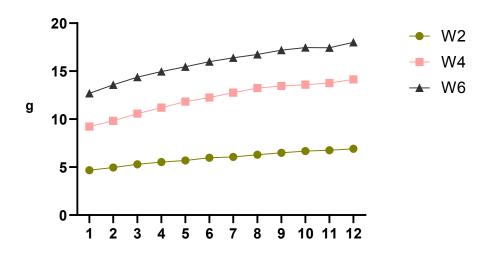
#### Semanas do experimento

Figura 10 – Consumo relativo de proteína da ração.

Legenda: C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

Em relação ao consumo absoluto de proteína da ração, ilustrado na figura 10, e apresentado nas tabelas (12, 13, 14 e 15) nos apêndices dispostos nas páginas (92, 93, 94 e 95), foi encontrada diferença significativa entre os grupos C e W4 (p<0,0237), entre os demais grupos não foram encontradas diferenças significativas, entre grupos C e W2 (p=0,2523), entre grupos C e W6 (p=0,9981), entre os grupos W2 e W4 (p=0,1778), entre os grupos W2 e W6 (p=0,4320), entre os grupos W4 e W6 (p=0,0697).

# 6.6 Consumo de proteína Whey proteins

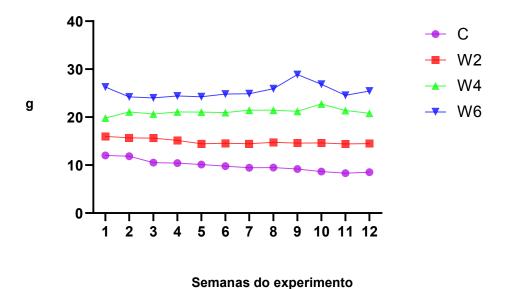


## Semanas do experimento

**Figura 11 –** Consumo de proteína *Whey proteins*. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

Em relação ao consumo de proteína *Whey proteins*, foram encontradas diferenças significativas entre todos os grupos que foram suplementados, entre os grupos W2 e W4 (p<0,0001), entre os grupos W2 e W6 (p<0,0001), entre os grupos W4 e W6 (p<0,0001).

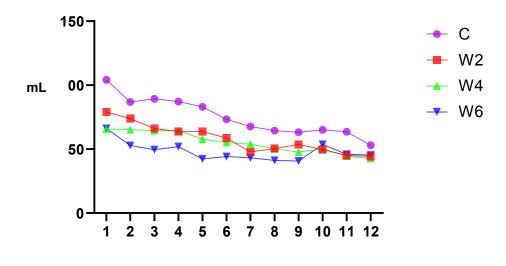
# 6.7 Consumo relativo de proteína de Whey + ração



**Figura 12 –** Consumo relativo de proteína *Whey proteins* e ração. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

Em relação ao consumo relativo de proteína de *whey* somada com a proteína da ração, ilustrado na figura 12, foram encontradas diferenças significativas entre todos os grupos, entre grupos C e W2 (p<0,0001), entre grupos C e W4 (p<0,0001), entre grupos C e W6 (p<0,0001), entre grupos W2 e W4 (p<0,0001), entre grupos W2 e W6 (p<0,0001), entre grupos W4 e W6 (p<0,0001).

# 6.8 Consumo relativo de água



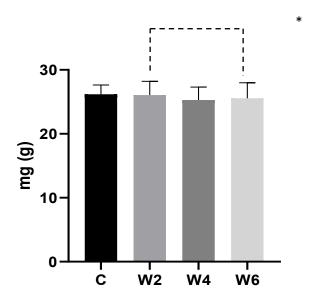
## Semanas do experimento

Figura 13 – Consumo relativo de água.

Legenda: C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

Em relação ao consumo absoluto de água, ilustrado na figura 13, foram encontradas diferenças significativas para todos os grupos, entre os grupos C e W2 (p<0,0001), entre os grupos C e W4 (p<0,0001), entre os grupos C e W6 (p<0,0001), entre os grupos W2 e W6 (p<0,0001), entre os grupos W4 e W6 (p<0,0001), exceto entre os grupos W2 e W4 (p=0,2705).

## 6.9 Peso relativo do fígado



**Figura 15 -** Peso relativo do fígado. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

Em relação ao peso relativo do fígado, ilustrado na figura 15, no grupo controle (C), foi encontrado o mínimo de 24,26 e o máximo de 28,53, com média de  $26,19 \pm 1,46$ , e erro padrão de 0,65.

No grupo (W2) suplementado com 2g/kg/dia foi encontrado o mínimo de 23,07 e o máximo de 30,07, com média de 26,06  $\pm$  2,16 e erro padrão de 0,68.

No grupo (W4) suplementado com 4g/kg/dia foi encontrado o mínimo de 22,25 e o máximo de 29,07, com média de  $25,29 \pm 2,01$ , e erro padrão de 0,64.

No grupo (W6) suplementado com 6g/kg/dia foi encontrado o mínimo de 22,03 e o máximo de 28,72, com média de 25,57 ± 2,41, e erro padrão de 0,76.

Foram encontradas diferenças significativas entre os grupos W2 e W6 (p=0,0466), entre os demais grupos não foram encontradas diferenças

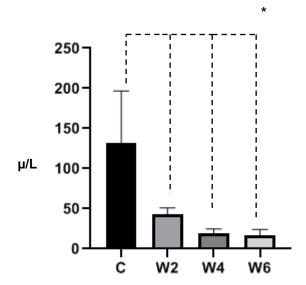
significativas, sendo entre os grupos C e W2 (p=0,2656), grupos C e W4 (p=0,9035), grupos C e W6 (p=0,6076), grupos W2 e W4 (p=0,7439), grupos W4 e W6 (p=0,3264).

# **6.10 Biomarcadores Hepáticos**

## 6.10.1 Alanina Aminotransferase

Conforme apresentado na tabela 37 disposta no apêndice (página 117) e ilustrado na figura 16 (página 59), apresenta os valores de análises do biomarcador Alanina Aminotransferase intergrupos.

Foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, entre C e W2 (p<0,0001), entre C e W4 (p<0,0001), entre C e W6 (p<0,0001), não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos suplementados, entre W2 e W4 (p<0,5813), entre W2 e W6 (p<0,0001), exceto entre W4 e W6 (p=0,7214).

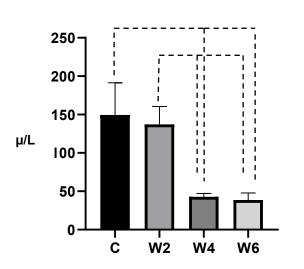


**Figura 16 -** Valores de análises de Alanina Aminotransferase intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

# **6.10.2 Aspartato Aminotransferase**

Conforme apresentado na tabela 38 disposta no apêndice (página 118) e ilustrado na figura 17 (página 60), os valores de análises do biomarcador aspartato aminotransferase intergrupos, observou-se que os valores do grupo C e do grupo W2 são maiores que os demais grupos.

Foram encontradas diferenças significativas entre os grupos entre C e W4 (p<0,0001), entre C e W6 (p<0,0001), entre W2 e W4 (p<0,0001), entre W2 e W6 (p<0,0001), exceto entre C e W2 (p=0,7503), entre W4 e W6 (p=0,9931).

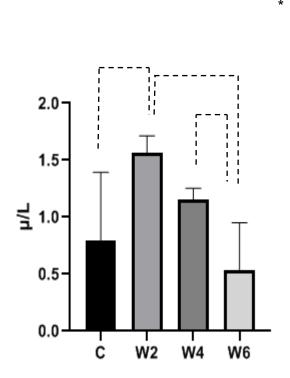


**Figura 17 -** Valores de análises de Aspartato Aminotransferase intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

## 6.10.3 Gama Glutamil transferase

Conforme apresentado na tabela 39 disposta no apêndice (página 119) e ilustrado na figura 18, os valores de análises do biomarcador Gama glutamil transferase intergrupos, observou-se que os valores do grupo W2 e do grupo W4 são maiores que os demais grupos.

Foram encontradas diferenças significativas entre os grupos entre C e W2 (p=0,0006), entre W2 e W6 (p=0,0002), entre W4 e W6 (p=0,0473), exceto entre C e W4 (p=0,2543), entre C e W6 (p=0,6046), entre W2 e W4 (p=0,1524).

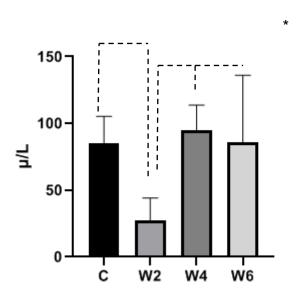


**Figura 18 -** Valores de análises de Gama glutamil transferase intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

## 6.10.4 Fosfatase Alcalina

Conforme apresentado na tabela 40 disposta no apêndice (página 120) e ilustrado na figura 19, os valores de análises do biomarcador Fosfatase Alcalina intergrupos, observou-se que os valores do grupo W4 são maiores que os demais grupos.

Foram encontradas diferenças significativas entre os grupos entre C e W2 (p=0,0001), entre W2 e W4 (p<0,0001), entre W2 e W6 (p=0,0015), exceto entre C e W4 (p=0,8647), entre C e W6 (p>0,9999), entre W4 e W6 (p=0,9200).

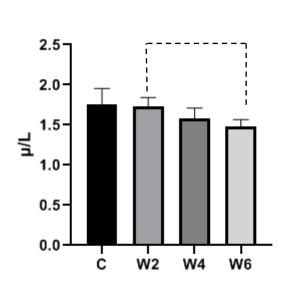


**Figura 19 -** Valores de análises de Fosfatase Alcalina intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

## 6.10.5 Bilirrubina

Conforme apresentado na tabela 41 disposta no apêndice (página 121) e ilustrado na figura 20, os valores de análises do biomarcador Bilirrubina intergrupos, observou-se que os valores do grupo C são maiores que os demais grupos.

Foram encontradas diferenças significativas apenas entre os grupos W2 e W6 (p=0,0213), nos demais grupos não foram encontradas diferenças significativas, entre C e W2 (p=0,9936), entre C e W4 (p=0,1733), entre C e W6 (p=0,0647), entre W2 e W4 (p=0,2423), entre W4 e W6 (p=0,7383).

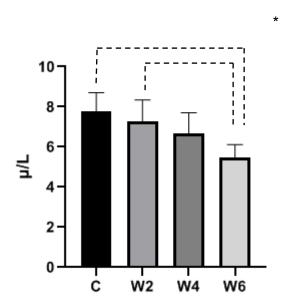


**Figura 20 -** Valores de análises de Bilirrubina intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

## 6.10.6 Proteína total

Conforme apresentado na tabela 42 disposta no apêndice (página 122) e ilustrado na figura 21, os valores de análises de proteínas totais intergrupos, observou-se que os valores do grupo C são maiores que os demais grupos.

Foram encontradas diferenças significativas entre os grupos C e W6 (p=0,0282) e entre os grupos W2 e W6 (p=0,0054), nos demais grupos não foram encontradas diferenças significativas, entre C e W2 (p=0,4747), entre C e W4 (p=0,3162), entre W2 e W4 (p=0,6194), entre W4 e W6 (p=0,3323).

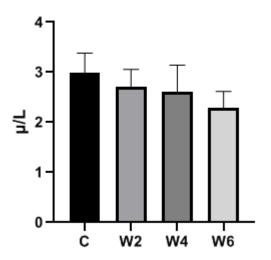


**Figura 21 -** Valores de análises de Proteínas totais intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

## 6.10.7 Albumina

Conforme apresentado na tabela 43 disposta no apêndice (página 123) e ilustrado na figura 22, os valores de análises de Albumina intergrupos, observouse que os valores do grupo C são maiores que os demais grupos.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, entre os grupos C e W2 (p=0,1985), entre os grupos C e W4 (p=0,2635), entre os grupos C e W6 (p=0,1557), entre os grupos W2 e W4 (p=0,8258), entre os grupos W2 e W6 (p=0,4168), entre os grupos W4 e W6 (p=0,8015).



**Figura 22 -** Valores de análises de Albumina intergrupos. **Legenda:** C – Controle; W2 – Suplementado 2g/kg/dia; W4 – Suplementado 4g/kg/dia; W6 – Suplementado com 6g/kg/dia.

.

# 6.11 Histologia hepática

Não foram encontradas alterações nas estruturas hepáticas, e nem alterações no volume dos hepatócitos, não foram encontradas esteatose, necrose e nem acúmulo de gordura, ilustrado na figura 23.

Foi feita análise de toda extensão do órgão e foi observada a não existência de lesões, através de varredura por toda a lâmina.

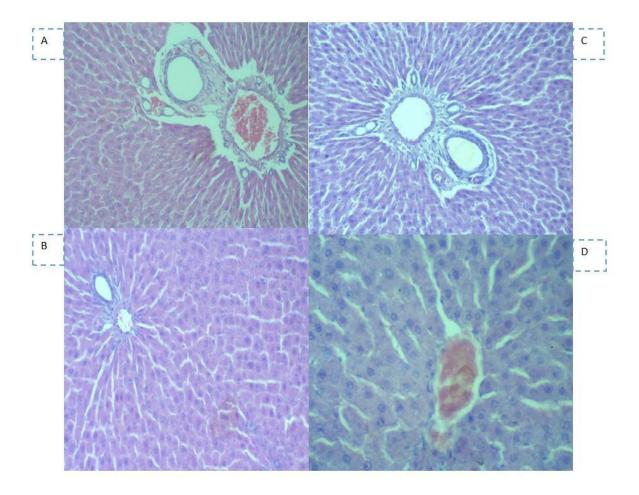


Figura 23. Histologia hepática.

**Legenda:** A – Grupo controle; B – Grupo suplementado com 2g/kg/dia; C – Grupo suplementado com 4g/kg/dia; D – Grupo suplementado com 6g/kg/dia.

# 7 DISCUSSÃO

No presente estudo na tabela 2 (página 47) (presentes nos apêndices, tabelas 8, 9, 10, 11 nas páginas 89, 90, 91, 92), estão apresentados os dados de massa corporal total e relativa dos grupos controle e suplementados, foram encontradas resultados em relação ao aumento da massa corporal de todos os grupos, e maior média na semana 12, indicando um progresso contínuo dessa variável, diferindo do estudo de Franzen et al., (2016) que em estudo com 24 ratos machos Wistar e diferentes tipos de dietas incluindo suplementação com *Whey proteins*, encontraram aumento significativo apenas em um grupo (p<0,001) que não recebeu *Whey proteins*.

O presente estudo também difere do estudo de Freundenberg et al., (2012), cabe ressaltar que o estudo foi com camundongos e o tempo de duração do experimento foi maior, sendo de 20 semanas, e o presente estudo foi 12 semanas, onde os autores encontraram menor peso corporal para os grupos que foram suplementados com *Whey proteins*.

O presente estudo também difere do estudo de Kim et al., (2015), porém cabe ressaltar que o estudo foi feito apenas com ratas fêmeas e com duração menor do tempo de experimento sendo apenas de 6 semanas.

Também diferindo do estudo de Sidiqqui et al., (2008) que em estudo com 32 ratos Wistar machos e suplementação com vitamina D, encontraram menor massa corporal nos grupos que foram suplementados com a dieta rica em vitamina D, quando comparados aos outros grupos, vale ressaltar que as dietas fornecidas para os ratos no estudo de Sidiqqui et al., (2008) eram compostas de

sacarose e vitamina D, porém na mesma quantidade de tempo que o presente estudo, sendo de 12 semanas.

O presente estudo também difere do estudo de Haraguchi et al., (2009), que em estudo com ratos machos Fisher, encontraram maior ganho de peso nos grupos que receberam dieta hipercolesterolemiante, vale ressaltar que as dietas eram ricas em gordura.

O presente estudo corrobora com o estudo de Hamad et al., (2011) que em estudo com 35 ratos machos Wistar, encontraram que o peso corporal dos ratos que foram suplementados com *Whey proteins* foi significativamente menor quando comparados aos demais grupos.

Os resultados presentes na figura 10 (página 52) dispostos nos apêndices (tabelas 16, 17, 18, 19 nas páginas 97, 98, 99, 100), sobre o consumo relativo de ração foram encontradas diferenças significativas apenas entre os grupos C e W2 (p=0,0093), entre C e W4 (p=0,0381), os demais grupos não apresentaram diferença significativa, diferindo do estudo de Freundenberg et al., (2012) que em estudo com camundongos encontraram uma ingestão menor de ração nos grupos que foram suplementados com *Whey proteins*, cabe ressaltar que o estudo foi feito com camundongos em uma duração de tempo maior de experimento do que a duração do presente estudo.

O presente estudo também difere do estudo de Haraguchi et al., (2009) que em estudo com 32 ratos machos Fisher, com dietas com proteína do soro do leite e com dietas ricas em gorduras, encontraram menor consumo de alimento nos grupos que receberam as dietas ricas em gordura, apesar de maior ganho de peso por esses grupos.

Conforme os resultados apresentados na tabela 3 (página 51), em relação ao consumo de *Whey proteins* observou-se o aumento do consumo na semana 12 quando comparado a semana 0, isso se deve ao fato de que os ratos estavam com maior massa corporal na semana 12 e o consumo de *Whey proteins* foi maior.

De acordo com resultados apresentados nas figuras 14 e 15 (páginas 56 e 57), dispostos nos apêndices (tabelas 4, 5, 6, 7 nas páginas 85, 86, 87,88), em relação ao peso do fígado, foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos W2 e W6 (p=0,0491), entre os demais grupos não foi encontrado diferença estatística, desse modo, diferente do estudo de Bailey et al., (2004) que encontraram diferenças significativas (p=0,004) em estudo com ratos em que analisaram o peso do fígado, cabe ressaltar que os ratos utilizados eram somente de grupos controle de outros estudos, e apesar de não serem suplementados com *Whey proteins* eram tratados através da via oral por meio de gavagem.

O presente estudo também apresentou resultados diferentes do estudo de Hamad et al., (2011) que em estudo com 35 ratos machos Wistar divididos em 7 grupos, onde dois grupos eram suplementados com *Whey proteins*, encontraram que o peso do fígado dos ratos do grupo suplementado com *Whey proteins* foi significativamente maior quando comparados ao grupo controle e os demais grupos que não foram suplementados com *Whey proteins*.

O presente estudo também diferiu do estudo de Haraguchi et al., (2009) que em estudo com ratos machos Fisher, encontraram aumento na massa do fígado de ratos que receberam dieta hipercolesterolemiante, cabe ressaltar que o grupo ao qual foram encontradas as maiores massas, receberam dieta rica em gordura, onde foram observado aumento na atividade das enzimas hepáticas,

pois dietas com fonte rica em gordura contribuem para o aumento do estresse oxidativo hepático.

Os resultados presentes na figura 16 (página 59), dispostos nos apêndices (tabela 36, página 117), em relação ao biomarcador de função hepática alanina aminotransferase, diferiu do estudo de Milani et al., (2016) que em estudo com 18 ratos machos Wistar, divididos em 3 grupos, não encontraram diferença significativa entre o grupo controle e os grupos suplementados, vale ressaltar que os ratos desse estudo eram diabéticos, mas foram suplementados com *Whey proteins* corroborando assim no efeito funcional de *Whey proteins*.

O presente estudo também difere do estudo de Gurgen et al., (2015) que encontraram diferença significativa para o biomarcador alanina aminotransferase em todos os grupos, cabe ressaltar que o tempo de duração do experimento foi menor, sendo apenas de 4 semanas.

O presente estudo corrobora com o estudo de Kume et al., (2006), que em estudo com 15 ratos machos Sprague Dawley, que ao analisar biomarcadores como alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e bilirrubina, encontraram efeito benéfico de proteína do soro do leite em relação ao fígado, e não encontraram diferença significativa entre os grupos.

O presente estudo difere do estudo de Takayanagi et al., (2011) que em estudo com 68 ratos Sprague Dawley onde eram induzidos a hepatite, encontraram no grupo controle ao qual teve a indução de hepatite aumento nas concentrações das enzimas alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase, vale ressaltar que os ratos desse estudo foram induzidos a hepatite.

Os resultados presentes na figura 17 (página 60), dispostos nos apêndices (tabela 37, página 118), em relação ao biomarcador de função hepática aspartato aminotransferase, corrobora com o estudo de Haraguchi et al., (2009), que em estudo com 32 ratos machos Fisher, divididos em 4 grupos, encontraram que os grupos que receberam as dietas que foram acrescidas de *Whey proteins* não aumentaram a atividade da aspartato aminotransferase, pois o aumento desse biomarcador assim como da alanina aminotransferase demonstram algum tipo de dano ou lesão tecidual do fígado, portanto whey proteins tem efeito protetor de acordo com os autores.

O estudo também corroborou com o estudo de Kume et al., (2006) que em estudo agudo com ratos machos Sprague Dawley, analisando alguns biomarcadores hepáticos como alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e bilirrubina, encontraram que a proteína do soro do leite em relação ao fígado não causa danos, onde não encontraram diferença significativa entre os grupos.

O presente estudo também corroborou com o estudo de Hamad et al., (2011), que em estudo com 35 ratos machos Wistar, divididos em 5 grupos, onde alguns desses grupos receberam suplementação com *Whey proteins*, encontraram redução nas concentrações das enzimas aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase, corroborando com o efeito benéfico de *Whey proteins*.

O presente estudo também corroborou com o estudo de Morato et al., (2013a) que em estudo com 48 ratos machos Wistar, encontraram que as atividades das enzimas alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase

não estavam aumentadas, não encontrando também nenhuma alteração hepática.

Diferindo do estudo de Gurgen et al., (2015) que em estudo com 30 ratos machos Wistar, encontraram maiores valores para os biomarcadores alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase, podendo indicar algum dano hepático, vale ressaltar que o estudo teve uma duração de tempo menor, sendo de apenas 4 semanas.

Os resultados presentes na figura 19 (página 62), dispostos nos apêndices (tabela 39, página 120), em relação ao biomarcador de função hepática Fosfatase Alcalina, corroboram com o estudo de Haraguchi et al., (2009) que em estudo com 32 ratos machos Fisher, divididos em 4 grupos, encontraram que os grupos que receberam as dietas com *Whey proteins* não aumentaram a atividade da fosfatase alcalina, sendo um efeito benéfico para o fígado.

Os resultados presentes na figura 20 (página 63), dispostos nos apêndices (tabela 40, página 121), em relação ao biomarcador de função hepática Bilirrubina, corroboram com o estudo de Haraguchi et al., (2009), que em estudo com 32 ratos machos Fisher, divididos em 4 grupos, encontraram que os grupos que receberam as dietas com *Whey proteins* não aumentaram a atividade da Bilirrubina, sendo um efeito benéfico para o fígado.

Os resultados presentes na figura 21 (página 64), dispostos nos apêndices (tabela 41, página 122), em relação à proteína total, corroboram com o estudo de Haraguchi et al., (2009) que em estudo com 32 ratos machos Fisher, divididos em 4 grupos, encontraram que os grupos que receberam as dietas com *Whey proteins* não aumentaram as proteínas totais, sendo um efeito benéfico para o fígado.

Os resultados presentes na figura 22 (página 65), dispostos nos apêndices (tabela 42, página 123), em relação ao biomarcador Albumina, corroboram com o estudo de Haraguchi et al., (2009) que em estudo com 32 ratos machos Fisher, divididos em 4 grupos, encontraram que os grupos que receberam as dietas com *Whey proteins* não aumentaram a atividade da albumina, sendo um efeito benéfico para o fígado.

Os resultados presentes na figura 23 (página 66), em relação à histologia hepática, foram observados que não foram encontradas lesões, e nem alterações nas estruturas hepáticas, corroborando com o estudo de Hamad et al., (2011) que mostrou que a suplementação com proteínas do soro do leite tiveram um efeito positivo no fígado, onde os hepatócitos exibiram morfologia normal.

### 8 CONCLUSÃO

Os achados deste estudo apoiam a hipótese afirmativa (H<sub>1</sub>), que apresenta a sugestão de que doses de 2, 4 e 6g/kg/dia de *Whey proteins* não influenciam na perda da função hepática e nem causam danos, respondendo também aos objetivos propostos no presente estudo.

Essas dosagens são superiores as recomendações encontradas na literatura, como já citado anteriormente, e foram escolhidas para que pudesse se encontrar o limiar de dose, sem dano hepático.

Os dados apresentados do presente estudo quanto às análises bioquímicas dos biomarcadores de função hepática expressam maiores valores para o grupo suplementado com 2g/kg/dia de *Whey proteins*, além de que em relação ao peso do fígado os ratos desse grupo apresentarem os maiores pesos tanto no peso absoluto quando no relativo quando comparados aos demais grupos.

Uma limitação desse estudo, que permite ainda que outros estudos sejam feitos para continuação do mesmo, é a investigação do perfil oxidativo em amostras biológicas.

75

9 FINANCIAMENTO / BOLSA

Eu, Anne Karynne da Silva Barbosa\*, discente responsável pela execução

da presente pesquisa, fui favorecida pela Coordenação de aperfeiçoamento de

pessoal de nível superior (CAPES), por meio do programa de demanda social de

apoio aos discentes inscritos e regulares em programas de pós-graduação stricto

sensu, através do Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto (PPGSAD),

da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

\*Bolsista CAPES, pelo nº de registro: 03447052341.

### REFERÊNCIAS

Abiad. Hábitos de consumo de suplementos alimentares no Brasil. 2015.

Andersen, M.L.; Dalmeida, V.; Ko, G.M.; Kawakami, R.; Martins, P.J.F.; Magalhães, L.E.; Tufik, S. Princípios éticos e práticos do uso de animais de expermientação. Cromosete. 167f. São Paulo. 2004.

American Dietetic Association and Dietitians of Canada. Dietary fatty acids. Journal of the American Dietetic Association. Vol. 107. Núm. 9. p. 1599. 2007.

Al-Dhuayan, I.S. Possible protective role of whey protein on the rat's liver tissues treated with nandrolone decanoate. Pakistan journal of biological sciences. Vol. 21. Núm. 6. p. 262-274, 2018.

Bailey, S.A.; Zidell, R.H.; Perry, R.W. Relationship between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical endpoint?. Toxicology Pathology. Vol. 32. Núm. 4. p. 448-466. 2004.

Bouthegourd, J.C.J.; Roseau, S.M.; Lahman, L.M.; Leruyet, P.; M.; Tomé, D.G.; Even, P.C. A preexercise a-lactalbumin-enriched whey protein meal preserves lipid oxidation and decreases adiposity in rats. American Journal of physiology endocrinology and Metabolism. Vol. 283. p. 565-572. 2002.

Brasnutri, Panorama do Setor, 2016.

Chaves, F.M.; Baptista, I.L.; Simabuco, F.M.; Quaresma, P.G.F.; Pena, F.L.; Bezerra, R.M.N.; Pauli, J.R.; Cunha, D.T.; Campos-Ferraz, P.L.; Antunes, A.E.C. High-intensity-exercise-induced intestinal damage is protected by fermented milk supplemented with whey protein, probiotic and pomegranate (Punica granatum L.). British Journal of nutrition. Vol. 119. p. 896-909, 2018.

Dangin, M.; Boirie, Y.; Garcia-Rodenas, C.; Gachon, P.; Fauquant, J.; Callier, P.; Ballèvre, O.; Beaufrère, B. The digestion rate of protein is an independent regulation factor of postprandial protein retention. Am J Physiol Endocrinol Metab. Vol. 280. p. 340-342. 2001.

Figura 1 – Composição de *Whey proteins*. Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão. 2018.

Figura 2 – Benefícios de *Whey proteins*. Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão. 2018.

Figura 4 - Gavagem. Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão. 2018.

Figura 5 - Fígado. Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão. 2018.

Franzen, J.M.; Vaz, J.G.; Zancanaro, V.; Bitencourt, R.M. Baixa dose de whey protein reduz glicose, triglicérides e controla o peso corporal em ratos wistar.

Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e emagrecimento. São Paulo. Vol. 10. Núm. 57. p.133-144. 2016.

Freudenberg, A.; Petzke, K.J.; Klaus, S. Comparison of high-protein diets and leucine supplementation in the prevention of metabolic syndrome and related disorders in mice. Journal of nutritional biochemistry. Vol. 23. p.1524-1530. 2012.

Gamdzyk, M.Z.; Maciejczyk, M.; Zalewska, A.; Ustymowick, K.G.; Tokajuk, A.; Car, H. Whey protein concentrate WPC-80 intensifies glycoconjugate catabolism and induces oxidative stress in the liver of rats. Nutrients. Vol. 10. Núm. 1178. p. 2-18, 2018.

Gurgen, S.G.; Yucel, A.T.; Karakus, A.C.; Cecen, D.; Ozen, G.; Kocturk, S. Usage of whey protein may cause liver damage via inflammatory and apoptotic responses. Human and experimental toxicology. Vol. 34. Núm. 7. p.769-779. 2015.

Hamad, E.M.; Taha, S.H.; Dawood, A.G.A.; Sitohy, M.Z.; Hamid, M.A. Protective effect of whey proteins against nonalcoholic fatty liver in rats. Lipids in health and disease. Vol. 10. Núm. 57. p.2-7. 2011.

Haraguchi, F.K.; Pedrosa, M.L.; Paula, H.; Santos, R.C.; Silva, M.E. Influence of whey protein on liver enzymes lipid profile and bone formation of hypercholesterolemic rats. Revista de Nutrição. Campinas. Vol. 22. Núm. 4. p.517-525. 2009.

Haraguchi, F.K.; Abreu, W.C.; Paula, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. Rev Nutr. Vol. 19. Núm. 4. p. 479-88. 2006.

Hoerauf, J.M.; Moss, A.F.; Bustamante, A.F.; Bartels, K. Study design rigor in animal-experimental research published in Anesthesia journals. Anesth Analg. Vol.126. Núm. 1. p. 217-222, 2019.

Kelly, O.; Cusack, S.; Cashman, K.D. The effect of bovine whey protein on ectopic bone formation in young growing rats. Journal of nutrition. Vol. 90. p.557-564. 2003.

Kerasioti, E.; Stagos, D.; Tsatsakis, A.M.; Spandidos, D.A.; Taitzoglou, J.; Kouretas, T. Effects of sheep/goat whey protein dietary supplementation on the redox status of rats. Molecular Medicine Reports. Vol.17, p. 5774-5781, 2018.

Kerasioti, E.; Veskoukis, A.; Virgiliou, C.; Theodoridis, G.; Taitzoglou, J.; Kouretas, T. The strong antioxidant sheep/goat whey protein protects against mTor overactivacion in rats: A mode of action mimicking fasting. Antoxidants. Vol.8. Núm. 71. p. 2-15, 2019.

Kim, J.; Kim, H.K.; Kim, S.; Imm, J.Y.; Whang, K.Y. Journal of medicinal food. Vol. 18. Núm. 12. p.1349-1356. 2015.

Kleiner, D.E.; Brunt, E.M.; Natta, M.V.; Behling, C.; Contos, M.J.; Cummings, O.W.; Ferrell, L.D.; Liu, Y.C.; Torbenson, M.S.; Arida, A.U.; Yeh, M.; McCullough, A.J.; Sanyall, A.J. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. Vol.41. p. 1313-1321. 2005.

Kume, H.; Okazaki, K.; Sasaki, H. Hepatoprotective effects of whey protein on D-galactosamine-induced hepatitis and liver fibrosis in rats. Biosciense, Biotechnology, Biochemistry. Vol. 70. Núm. 5. p.1281-1285. 2006.

Krissasen, G.W.; Emerging health properties of whey proteins and their clinical implications. Journal of the American College of nutrition. Vol. 26. Núm. 6. p. 713-723, 2007.

Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M. Princípios da bioquímica. 4ºed. São Paulo. Sarvier, 2006.

Marshall, K. Therapeutic applications of whey protein. Alternative Medicine Review. Vol. 9. Núm. 2. p. 136-156. 2004.

Milani, P.G.; Dacome, A.S.; Nalesso, C.C.F.; Fiorenti, C.A.; Costa, C.E.M.; Costa, S.C. Functional properties and sensory testing of whey protein concentrate sweetened with rebaudioside A. Revista de Nutrição. Campinas. Vol. 29. Núm. 1. p.125-137. 2016.

Morato, P. N.; Lollo, P.C.B.; Moura, C.S.; Batista, T.M.; Camargo, R.L.; Carneiro, E.M.; Farfan, J.A. Whey protein hydrolysate increases translocation of Glut-4 to the plasma membrane independent of insulin in wistar rats. Plos One. Vol. 8. Núm. 8. 2013a.

Morato, P.N.; Lollo, P.C.B.; Moura, C.S.; Batista, T.M.; Camargo, R.L.; Carneiro, E.M.; Farfan, J.A. A dipeptide and an amino acid present in whey protein hydrolysate increase translocation of Glut-4 to the plasma membrane in wistar rats. Food Chemistry. Vol. 139. p.853-859. 2013b.

Morifuji, M.; Kanda, A.; Koga, J.; Kawanaka, K.; Higuchi, M. Preexercise ingestion of carbohydrate plus whey protein hydrolysates attenuates skeletal muscle glycogen depletion during exercise in rats. Nutrition. Vol. 27. p. 833-837. 2011.

Monteyne, A.; Martin, A.; Jacson, L.; Corrigan, N.; Stringer, E.; Newey, J.; Rumbold, P.L.S.; Stevenson, E.J.; James, L.J. Whey protein consumption after resistance exercise reduces energy intake at a post-exercise meal. European Journal of Nutrition. Vol. 57. p.1-8. 2016. Springer Nature. http://dx.doi.org/10.1007/s00394-016-1344-4.

Moss, D. W. Alkaline Phosphatase Isoenzymes. Clin. Chem., v. 28, n. 10, p. 2007-2016, 1982.

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.

Nii, A.; Utsunomiya, T.; Shimada, M.; Ikegami, T.; Ishibashi, H.; Imura, S.; Morine, Y.; Ikemoto, T.; Sasaki, H.; Kawashima, A. A hydrolyzed whey peptide-based diet ameriolates hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat nonalcoholic fatty liver. Surg Today. Vol. 44. p. 2354-2360. 2014.

Padovani, R.M.; Amaya-Farfan, J.; Colugnati, F.A.B.; Domene, S.M.A. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. Rev. Nutr. Camp. Vol. 19. Núm. 6. p. 741-760, 2006.

Pennigns, B.; Boirie, Y.; Senden, J.M.G.; Gijsen, A.P.; Kuipers, H.; Loon, L.J.C.V. Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion more effectively than do casein hydrolysate in older men. Am J. Clin Nutr. Vol. 93. p. 997-1005. 2011.

PetitClerc, C.; Schiele, F.; Bagrel, D.; Mahassen, A.; Siest, G. Kinetic properties of y-glutamyltransferase from human liver. Clin. Chem. V. 26, n. 12, p. 1688-1693, 1980.

Poortmans, J.R.; Carpentier, A.; Pereira-Lancha, R.O.; Lancha Junior, A. Protein turnover, amino acid requirements and recommendations for athletes and active populations. Braz J Med Biol Res. Vol. 45. Núm. 10. p. 875-890. 2012.

Raimondo, R.F.S.; Miyiashiro, S.I.; Mori, C.S.; Birgel Junior, E.H. Proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey durante a lactação. Pesq. Vet. Bras. Vol. 33. Núm. 1. p. 119-125. 2013.

Radic, I.; Mijovic, M.; Tatalovic, N.; Mitic, M.; Lukic, V.; Joksimovic, B.; Petrovic, Z.; Ristic, S.; Velickovic, S.; Nestorovic, V.; Corac, A.; Miric, M.; Azdic, M.; Blagojevic, D.P.; Popovic, L.; Hudomal, S.J. Protective effects of whey on rat liver damage induced by chronic alcohol intake. Human and experimental toxicology. Vol. 38. Núm. 6. p. 632-645, 2019.

Sgarbieri, V.C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. Rev. Nutr. Vol. 17. Núm. 4. p. 397-409. 2004.

Siddiqui, S.M.K.; Chang, E.; Li, J.; Burlage, C.; Zou, M.; Buhman, K.K.; Koser, S.; Donkin, S.S.; Teegarden, D. Dietary intervention with vitamin D, calcium, and whey protein reduced fat mass and increased lean mass in rats. Nutrition Research. Vol. 28. p. 783-790. 2008.

Takayanagi, T.; Sasaki, H.; Kawashima, A.; Mizuochi, Y.; Hirate, H.; Sugiura, T.; Azami, T.; Asai, K.; Sobue, K. A new enteral diet, MNH-02, which contains abundant antioxidants and Whey peptide, protects against carbon tetrachloride-induced hepatitis. Journal of parenteral and enteral nutrition. Vol. 35. Núm. 4. p.516-522. 2011.

Tournier, M.; Pouech, C.; Quignot, N.; Lafay, F.; Wiest, L.; Lemazurier, E.; Cren-Olivé, C.; Vulliet, E. Determination of endocrine disruptors and endogenic

androgens and estrogens in rat serum by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Steroids. Vol. 104. p. 252-262. 2015.

Trefts, E.; Gannon, M.; Wasserman, D.H. The liver. Curr Biol. Vol. 27. Núm. 21. p. 1147-1151, 2018.

Vitorino, D.C. Efeito da suplementação com óleo de fígado de tubarão sobre o sistema imunitário de ratos treinados. Dissertação de Mestrado em Educação Física. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. 2009.

Witard, O.C.; Turner, J.E.; Jackman, S.R.; Kies, A.K.; Jeukendrup, A.E.; Bosch, J.A.; Tipton, K.D. High Dietary protein restores overreaching induced impairments in leukocyte trafficking and reduces the incidence of upper respiratory tract infection in elite cyclists. Brain, Behavior and Immunity. Vol. 39. p. 211-219. 2014.

**ANEXOS** 



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

#### **CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Alterações em biomarcações de função hepática em ratos Wistar não treinados suplementados com proteína do soro do leite em diferentes doses por doze semanas." registrada com o nº 23115.001161/201785, sob a responsabilidade de Francisco Navarro, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado APROVADO pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão.

FINALIDADE	( )ENSINO(X)PESQUISA ( ) EXTENSÃO
Vigência da autorização	01/08/2017 à 01/08/2019
Espécie/linhagem/raça	Ratos/Wistar ( Rattus norvegicus )
N° de animais	60 animais
Peso/Idade	200 -250 g/ 60 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFMA

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

Jucilene amoum Silva



# UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FISICA

PÓS-GRADUAÇÃO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE --CCBS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DO ADULTO- PPGSAD

# TERMO DE CONSENTIMENTO - BIOTÉRIO SETORIAL

O Biotério setorial do Programa de Pós Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde — UFMA consente com a execução do projeto de pesquisa: "Efeitos da suplementação de proteína do soro do leite e do uso de decanoato de nandrolona por doze semanas sobre os biomarcadores de função hepática de ratos wistar sedentários" coordenado pelo Prof. Dr. Francisco Navarro, docente do departamento de Educação Física da UFMA. O Biotério está em consonância quanto a disponibilizar o local necessário para a coleta de dados durante a execução da pesquisa.

São Luís, 20 de Junho de 2017.

Antônio Marcus de Andrade Pae Coordenador

"A Universidade que Cresce com Inovação e Inclusão Social"

Campus Universitário do Bacanga – Núcleo de Esporta - Av. dos Portugueses, Un - São Luis-MA - CEP. 65085-580 Fone: (98) 3301-8170 Fax: (98) 3301-8170 - Sito: www.ulma.bt - E-mail.defulmo@gmad.coml

Scanned by CamScanner

**APÊNDICES** 

Tabela 4 - Peso do fígado do grupo controle.

Grupo controle	Peso absoluto do fígado	Peso relativo do fígado
R1	9,95	24,81
R2	9,70	25,84
R3	11,92	28,53
R4	11,33	27,26
R5	11,56	27,63
Média	10,89	26,81
Desvio padrão	1,00	1,48
Erro padrão	0,45	0,66
Mínimo	9,70	24,81
Máximo	11,92	28,53

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5.

Tabela 5 - Peso do fígado do grupo 2g (W2).

	Peso absoluto do fígado	Peso relativo do fígado
R1	11,43	26,47
R2	13,02	28,39
R3	13,44	26,40
R4	13,65	30,07
R5	12,34	27,12
R6	12,96	24,88
R7	11,43	23,29
R8	13,37	25,13
R9	12,44	23,07
R10	14,04	25,80
Média	12,81	26,06
Desvio padrão	0,89	2,16
Erro padrão	0,28	0,68
Mínimo	11,43	23,07
Máximo	14,04	30,07

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; R8 – Rato 8; R9 – Rato 9; R10 – Rato 10.

Tabela 6 - Peso do fígado do grupo 4g (W4).

Grupo 4g	Peso absoluto do fígado	Peso relativo do fígado
R1	10,94	24,66
R2	9,41	25,57
R3	9,78	22,25
R4	11,95	25,31
R5	14,68	24,74
R6	14,67	29,07
R7	13,17	25,43
Média	12,08	25,29
Desvio padrão	2,17	2,01
Erro padrão	0,69	0,64
Mínimo	9,41	22,25
Máximo	14,68	29,07

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7.

Tabela 7 - Peso do fígado do grupo 6g (W6).

Grupo 6g	Peso absoluto do fígado	Peso relativo do fígado
R1	11,42	26,30
R2	8,46	22,03
R3	11,63	28,72
R4	11,86	25,03
R5	9,67	25,75
Média	10,61	25,57
Desvio padrão	1,48	2,41
Erro padrão	0,47	0,76
Mínimo	8,46	22,03
Máximo	11,86	28,72

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5.

Tabela	8 - Peso corp	oral do grupo	controle (C)					
С	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	298,2	270,5	306,6	313,6	309,4	299,66	17,25	7,71
S2	309,3	280,7	317,4	322,1	329,6	311,82	18,89	8,45
S3	322,1	286,4	335,1	328,2	348,1	323,98	23,12	10,34
S4	338,1	299,9	353,9	344,9	363,1	339,98	24,30	10,87
S5	348,3	313,7	363,9	353,8	370	349,94	21,96	9,82
S6	364,6	326,8	384	369,4	388,1	366,58	24,29	10,86
S7	368,2	332,3	391,6	384,2	397,1	374,68	26,07	11,66
S8	379	344,2	402,9	393,4	405	384,9	24,96	11,16
S9	384,3	360,3	410,6	409,9	411,1	395,24	22,60	10,11
S10	401,4	371	409,6	405,6	413,9	400,3	17,02	7,61
S11	401,1	375,4	417,8	415,6	418,2	405,62	18,30	8,19
S12	415,2	385,2	428,9	420,7	424,7	414,94	17,38	7,77

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5. S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 9 -	Peso c	corporal do	arupo	suplementado \	N2
i abola o		oipoiai ao	91000	Capiciliciliaac i	, v <u>–</u> .

W2	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	DP	EP
S1	328	323,3	346,7	332,5	319,4	336,9	314,5	338,1	345,9	360,1	334,5	13,95	4,41
S2	344,4	345,7	368,1	347,6	318,5	357,8	335,9	363,5	373,8	389,7	354,5	20,43	6,46
S3	364,9	351,1	386	367,8	344,1	381,8	364,8	389,5	407,3	419,3	377,7	23,8	7,53
S4	375,1	372,1	402,3	383,5	364,2	407,6	390,2	414,7	391,2	443,3	394,4	23,5	7,43
S5	383	382,7	420,2	395,5	375,7	401,6	401	428,5	422,3	451,6	406,2	24,03	7,60
S6	391,8	394,1	442,8	443	375,2	426,2	424,1	450,4	451,8	470,8	427	30,91	9,78
S7	399,5	409,5	452,8	413,3	394,4	441,5	431,9	463,2	471,2	453,1	433	27,47	8,69
S8	409,4	417,2	463,3	428,6	411,8	464,2	452,3	483	491,2	474,3	449,5	30,55	9,66
S9	417,2	431,8	481,7	437,4	424	487	462,8	490,5	503,7	496,9	463,3	32,89	10,4
S10	427,1	444,9	494,7	451,3	437,3	499,1	471,3	508	517,1	510,7	476,2	33,81	10,69
S11	428,4	450,8	498,1	450,3	440,7	505,5	480,3	520,5	520,4	527,3	482,2	37,09	11,73
S12	431,8	458,6	508,9	453,9	455	520,7	490,7	531,9	539,1	544,1	493,5	41,06	12,98

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; R8 – Rato 8; R9 – Rato 9; R10 – Rato 10; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 10	) - Peso c	orporal d	o grupo s	suplemen	itado W4	•				
W4	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Média	DP	EP
S1	315,6	328,8	326,6	315,8	331,2	355	334	329,57	13,31	5,03
S2	347,3	342,8	354,3	329,5	343,5	382,3	358,6	351,19	16,57	6,26
S3	380,6	364,4	391	358,9	365,4	407,1	377	377,77	16,99	6,42
S4	405,7	393,4	412,4	373,5	383,5	426,4	401,4	399,47	17,80	6,73
S5	431,7	419,4	434,3	394,1	402,7	451,5	421,4	422,16	19,47	7,36
S6	443	440	456	410	416	466	432	437,57	20,16	7,62
S7	466,7	449,3	474,1	422,6	435	487,9	455,8	455,91	22,59	8,54
S8	484,1	468	495,3	440,8	448,2	506,4	467,5	472,90	23,96	9,05
S9	494,2	477,5	491,9	449,8	453,3	516,1	483,4	480,89	23,39	8,84
S10	497,9	481,7	507,1	448,4	454,7	519,8	489	485,51	26,29	9,94
S11	505,5	487,2	515,9	455,4	458,1	524,8	491	491,13	26,88	10,16
S12	517,7	501,5	531	468,3	472,2	539,3	504,7	504,96	27,23	10,29

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela	11 - Peso	o corporal	pelo grupo	suplemer	ntado W6.				
W6	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP	
S1	301,7	266,4	281,1	304,7	269,6	284,7	17,78	7,95	
S2	318,7	282,9	302,2	322,5	280,7	301,4	19,47	8,71	
S3	341,4	299,2	321,8	348,5	297,1	321,6	23,55	10,53	
S4	362,6	316,2	340,3	370,3	312,4	340,36	26,25	11,74	
S5	379,5	330,4	352,3	384,4	325,4	354,4	27,16	12,15	
S6	393	340	364	407	333	367,4	32,28	14,44	
S7	402,8	352,6	374	420	343,2	378,52	32,60	14,58	
S8	406,5	360,9	384,5	436,8	348,6	387,46	35,43	15,84	
S9	422,8	371,8	395,6	443,2	356,3	397,94	35,67	15,95	
S10	424,3	383,5	403,7	455,3	364,5	406,26	35,35	15,81	
S11	434	384	404,7	462,1	364,3	409,82	39,00	17,44	
S12	444,7	397,7	411	473,6	375,6	420.52	38 83	17 37	

Legenda: R1 - Rato 1; R2 - Rato 2; R3 - Rato 3; R4 - Rato 4; R5 - Rato 5; S1 -Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 1; S2 -Semana 6; S7 - Semana 7; S8 - Semana 8; S9 - Semana 9; S10 - Semana 10; S11 -Semana 11; S12 - Semana 12.

420,52

38,83

17,37

Tabela 12 - Consumo absoluto de ração pelo grupo controle (C).

С	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP	_
S1	156,6	156,6	156,6	156,6	156,6	156,6	0	0	
S2	157,1	157,1	157,1	157,1	157,1	157,1	0	0	
S3	150,9	150,9	150,9	150,9	150,9	150,9	0	0	
S4	156,6	156,6	156,6	156,6	156,6	156,6	0	0	
S5	158	158	158	158	158	158	0	0	
S6	158,4	158,4	158,4	158,4	158,4	158,4	0	0	
S7	159	159	159	159	159	159	0	0	
S8	161	161	161	161	161	161	0	0	
S9	162,5	162,5	162,5	162,5	162,5	162,5	0	0	
S10	153	153	153	153	153	153	0	0	
S11	147,1	147,1	147,1	147,1	147,1	147,1	0	0	
S12	153,5	153,5	153,5	153,5	153,5	153,5	0	0	

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5. S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 13 -	Consumo al	bsoluto de	ração p	elo grupo	suplementado W2.

Tabcia 15	Consun	io absolu	ito ac raç	ao pelo	grupo su	picincina	IGO VVZ.						
W2	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	DP	EP
S1	167,5	167,5	167,5	167,5	167,5	175,4	175,4	175,4	175,4	175,4	171,45	4,16	1,32
S2	165,5	165,5	165,5	165,5	165,5	179,1	179,1	179,1	179,1	179,1	172,3	7,17	2,27
S3	166,9	166,9	166,9	166,9	166,9	187,6	187,6	187,6	187,6	187,6	177,25	10,91	3,45
S4	165,8	165,8	165,8	165,8	165,8	178,6	178,6	178,6	178,6	178,6	172,2	6,75	2,13
S5	157,7	157,7	157,7	157,7	157,7	164,6	164,6	164,6	164,6	164,6	161,15	3,64	1,15
S6	157,6	157,6	157,6	157,6	157,6	173,9	173,9	173,9	173,9	173,9	165,75	8,59	2,72
S7	160,3	160,3	160,3	160,3	160,3	169,4	169,4	169,4	169,4	169,4	164,85	4,80	1,52
S8	161,6	161,6	161,6	161,6	161,6	182,8	182,8	182,8	182,8	182,8	172,2	11,17	3,53
S9	164,6	164,6	164,6	164,6	164,6	175,3	175,3	175,3	175,3	175,3	169,95	5,64	1,78
S10	161,7	161,7	161,7	161,7	161,7	182,3	182,3	182,3	182,3	182,3	172	10,86	3,43
S11	154,3	154,3	154,3	154,3	154,3	181,4	181,4	181,4	181,4	181,4	167,85	14,28	4,52
S12	159,9	159,9	159,9	159,9	159,9	179,7	179,7	179,7	179,7	179,7	169,8	10,44	3,3

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; R8 – Rato 8; R9 – Rato 9; R10 – Rato 10; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 14 - Consumo absoluto de ração pelo grupo suplementado W4.

Tabola I		iiio aboo	iato ao ic	igao poio	grapo oc	apionioni	aao vv i.			
W4	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Média	DP	EP
S1	147	147	147	147	174,5	174,5	174,5	158,79	14,70	4,65
S2	183,6	183,6	183,6	183,6	173,3	173,3	173,3	179,19	5,51	1,74
S3	171,5	171,5	171,5	171,5	174,1	174,1	174,1	172,61	1,39	0,44
S4	178,5	178,5	178,5	178,5	180,5	180,5	180,5	179,36	1,07	0,34
S5	177,6	177,6	177,6	177,6	175,6	175,6	175,6	176,74	1,07	0,34
S6	173,6	173,6	173,6	173,6	171,9	171,9	171,9	172,87	0,91	0,29
S7	181,3	181,3	181,3	181,3	176,5	176,5	176,5	179,24	2,57	0,81
S8	178,3	178,3	178,3	178,3	173,3	173,3	173,3	176,16	2,67	0,85
S9	168,1	168,1	168,1	168,1	170,3	170,3	170,3	169,04	1,18	0,37
S10	198,8	198,8	198,8	198,8	205,3	205,3	205,3	201,59	3,47	1,10
S11	168,1	168,1	168,1	168,1	172,1	172,1	172,1	169,81	2,14	0,68
S12	139,6	139,6	139,6	139,6	171,6	171,6	171,6	153,31	17,10	5,41

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 15 - Consumo absoluto de ração pelo grupo suplementado W6.												
W6	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP				
S1	156,2	156,2	156.2	150.2	150.2	152 04	2 22	1.02				
S2	150,2	130,2	156,2	150,3	150,3	153,84	3,23	1,02				
	162,6	162,6	162,6	154,7	154,7	159,44	4,33	1,37				
S3	152,1	152,1	152,1	156,4	156,4	153,82	2,36	0,74				
S4	102,1	102,1	102,1	100,1	100, 1	100,02	2,00	0,1 1				
	161,3	161,3	161,3	158	158	159,98	1,81	0,57				
S5	148,1	148,1	148,1	143,8	143,8	146,38	2,36	0,74				
S6	1 10, 1	0, .		1 10,0	1 10,0	1 10,00	2,00	0,1 1				
07	150	150	150	174,8	174,8	159,92	13,58	4,30				
S7	152,4	152,4	152,4	153	153	152,64	0,33	0,10				
S8	- ,	- ,	- ,			- , -	-,	-, -				
00	147,9	147,9	147,9	169,5	169,5	156,54	11,83	3,74				
S9	141,2	141,2	141,2	141,8	141,8	141,44	0,33	0,10				
S10	,_	,	,	, 0	, •	,	0,00	0,.0				
	201,6	201,6	201,6	197,1	197,1	199,80	2,46	0,78				
S11	139,7	139,7	139,7	138,7	138,7	139,30	0,55	0,17				
S12	133,1	100,1	100,1	100,1	130,1	138,30	0,55	0,17				
	137,9	137,9	137,9	148,5	148,5	142,14	5,81	1,84				

**Legenda:** R1 - Rato 1; R2 - Rato 2; R3 - Rato 3; R4 - Rato 4; R5 - Rato 5; S1 - Semana 1; S2 - Semana 2; S3 - Semana 3; S4 - Semana 4; S5 - Semana 5; S6 - Semana 6; S7 - Semana 7; S8 - Semana 8; S9 - Semana 9; S10 - Semana 10; S11 - Semana 11; S12 - Semana 12.

Tabela 16 - Consumo relativo de ração pelo grupo controle (C).

1 45014 10	o on our no notat	ivo ao iagao p	olo glapo col	iti 0.0 (0).				
С	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	52,52	57,89	51,08	49,94	50,61	52,41	3,21	1,44
S2	50,79	55,97	49,50	48,77	47,66	50,54	3,24	1,45
S3	46,85	52,69	45,03	45,98	43,35	46,78	3,55	1,59
S4	46,32	52,22	44,25	45,40	43,13	46,26	3,54	1,58
S5	45,36	50,37	43,42	44,66	42,70	45,30	3,02	1,35
S6	43,44	48,47	41,25	42,88	40,81	43,37	3,05	1,37
S7	43,18	47,85	40,60	41,38	40,04	42,61	3,16	1,41
S8	42,48	46,78	39,96	40,93	39,75	41,98	2,89	1,29
S9	42,28	45,10	39,58	39,64	39,53	41,23	2,46	1,10
S10	38,12	41,24	37,35	37,72	36,97	38,28	1,71	0,76
S11	36,67	39,18	35,21	35,39	35,17	36,33	1,71	0,77
S12	36,97	39,85	35,79	36,49	36,14	37,05	1,63	0,73

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5. S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 17 - Consumo relativo de ração pelo grupo suplementado W2.

1 45014	17 001100	iiio ioiati	to ao lag	ao polo g	. apo cap	omoniaa	<u> </u>						
W2	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	DP	EP
S1	51,07	51,81	48,31	50,38	52,44	52,06	55,77	51,88	50,71	48,71	51,31	2,09	0,66
S2	48,05	47,87	44,96	47,61	51,96	50,06	53,32	49,27	47,91	45,96	48,70	2,55	0,81
S3	45,74	47,54	43,24	45,38	48,50	49,14	51,43	48,16	46,06	44,74	46,99	2,41	0,76
S4	44,20	44,56	41,21	43,23	45,52	43,82	45,77	43,07	45,65	40,29	43,73	1,85	0,59
S5	41,17	41,21	37,53	39,87	41,97	40,99	41,05	38,41	38,98	36,45	39,76	1,84	0,58
S6	40,22	39,99	35,59	35,58	42,00	40,80	41,00	38,61	38,49	36,94	38,92	2,28	0,72
S7	40,13	39,15	35,40	38,79	40,64	38,37	39,22	36,57	35,95	37,39	38,16	1,77	0,56
S8	39,47	38,73	34,88	37,70	39,24	39,38	40,42	37,85	37,21	38,54	38,34	1,55	0,49
S9	39,45	38,12	34,17	37,63	38,82	36,00	37,88	35,74	34,80	35,28	36,79	1,82	0,57
S10	37,86	36,35	32,69	35,83	36,98	36,53	38,68	35,89	35,25	35,70	36,17	1,61	0,51
S11	36,02	34,23	30,98	34,27	35,01	35,89	37,77	34,85	34,86	34,40	34,83	1,73	0,55
S12	37,03	34,87	31,42	35,23	35,14	34,51	36,62	33,78	33,33	33,03	34,50	1,68	0,53

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; R8 – Rato 8; R9 – Rato 9; R10 – Rato 10; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 18 - Consumo relativo de ração pelo grupo suplementado W4.

rabela 18 - Consumo re	iativo de ra	ação peio	o grupo s	supiemen	ilado VV4	•				
W4	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Média	DP	EP
S1	46,58	44,71	45,01	46,55	52,69	49,15	52,25	48,13	3,29	1,04
S2	52,86	53,56	51,82	55,72	50,45	45,33	48,33	51,15	3,47	1,10
S3	45,06	47,06	43,86	47,78	47,65	42,77	46,18	45,77	1,94	0,61
S4	44,00	45,37	43,28	47,79	47,07	42,33	44,97	44,97	1,97	0,62
S5	41,14	42,35	40,89	45,06	43,61	38,89	41,67	41,94	1,99	0,63
S6	39,19	39,45	38,07	42,34	41,32	36,89	39,79	39,58	1,84	0,58
S7	38,85	40,35	38,24	42,90	40,57	36,18	38,72	39,40	2,12	0,67
S8	36,83	38,10	36,00	40,45	38,67	34,22	37,07	37,33	1,99	0,63
S9	34,01	35,20	34,17	37,37	37,57	33,00	35,23	35,22	1,71	0,54
S10	39,93	41,27	39,20	44,34	45,15	39,50	41,98	41,62	2,36	0,75
S11	33,25	34,50	32,58	36,91	37,57	32,79	35,05	34,67	1,98	0,63
S12	26,97	27,84	26,29	29,81	36,34	31,82	34,00	30,44	3,78	1,20

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 1	9 - Consui	mo relativ	o de raçã	ăo pelo gr	upo suple	ementado V	V6.	
W6	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	51,77	58,63	55,57	49,33	55,75	54,21	3,66	1,16
S2	51,02	57,48	53,81	47,97	55,11	53,08	3,69	1,17
S3	44,55	50,84	47,27	44,88	52,64	48,03	3,60	1,14
S4	44,48	51,01	47,40	42,67	50,58	47,23	3,67	1,16
S5	39,03	44,82	42,04	21,01	44,19	38,22	9,88	3,13
S6	38,17	44,12	41,21	42,95	52,49	43,79	5,36	1,69
S7	37,84	43,22	40,75	36,43	44,58	40,56	3,46	1,09
S8	36,38	40,98	38,47	38,80	48,62	40,65	4,74	1,50
S9	33,40	37,98	35,69	31,99	39,80	35,77	3,20	1,01
S10	47,51	52,57	49,94	43,29	54,07	49,48	4,27	1,35
S11	32,19	36,38	34,52	30,02	38,07	34,24	3,22	1,02
S12	31,03	34,67	33,55	31,36	39,54	34,03	3,43	1,09

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 20 - Consumo absoluto de proteína da ração pelo grupo controle (C).

С	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	34,45	34,45	34,45	34,45	34,45	34,45	0	0
S2	34,56	34,56	34,56	34,56	34,56	34,56	0	0
S3	33,20	33,20	33,20	33,20	33,20	33,20	0	0
S4	34,45	34,45	34,45	34,45	34,45	34,45	0	0
S5	34,76	34,76	34,76	34,76	34,76	34,76	0	0
S6	34,85	34,85	34,85	34,85	34,85	34,85	0	0
S7	34,98	34,98	34,98	34,98	34,98	34,98	0	0
S8	35,42	35,42	35,42	35,42	35,42	35,42	0	0
S9	35,75	35,75	35,75	35,75	35,75	35,75	0	0
S10	33,66	33,66	33,66	33,66	33,66	33,66	0	0
S11	32,36	32,36	32,36	32,36	32,36	32,36	0	0
S12	33,77	33,77	33,77	33,77	33,77	33,77	0	0

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5. S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 21 - Consumo absoluto de proteína da ração pelo grupo suplementado W2.

W2	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	DP	EP
S1	36,85	36,85	36,85	36,85	36,85	38,59	38,59	38,59	38,59	38,59	37,72	0,92	0,29
S2	36,41	36,41	36,41	36,41	36,41	39,40	39,40	39,40	39,40	39,40	37,91	1,58	0,50
S3	36,72	36,72	36,72	36,72	36,72	41,27	41,27	41,27	41,27	41,27	39,00	2,40	0,76
S4	36,48	36,48	36,48	36,48	36,48	39,29	39,29	39,29	39,29	39,29	37,88	1,48	0,47
S5	34,69	34,69	34,69	34,69	34,69	36,21	36,21	36,21	36,21	36,21	35,45	0,80	0,25
S6	34,67	34,67	34,67	34,67	34,67	38,26	38,26	38,26	38,26	38,26	36,47	1,89	0,60
S7	35,27	35,27	35,27	35,27	35,27	37,27	37,27	37,27	37,27	37,27	36,27	1,06	0,33
S8	35,55	35,55	35,55	35,55	35,55	40,22	40,22	40,22	40,22	40,22	37,88	2,46	0,78
S9	36,21	36,21	36,21	36,21	36,21	38,57	38,57	38,57	38,57	38,57	37,39	1,24	0,39
S10	35,57	35,57	35,57	35,57	35,57	40,11	40,11	40,11	40,11	40,11	37,84	2,39	0,76
S11	33,95	33,95	33,95	33,95	33,95	39,91	39,91	39,91	39,91	39,91	36,93	3,14	0,99
S12	35,18	35,18	35,18	35,18	35,18	39,53	39,53	39,53	39,53	39,53	37,36	2,30	0,73

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; R8 – Rato 8; R9 – Rato 9; R10 – Rato 10; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 22 - Consumo absoluto de proteína da ração pelo grupo suplementado W4.

			•		•		•				
W4	R1	R2	R3	R4	R4	R5	R6	R7	Média	DP	EP
S1	32,34	32,34	32,34	32,34	38,39	38,39	38,39	48,97	39,14	7,28	2,30
S2	40,39	40,39	40,39	40,39	38,13	38,13	38,13	35,84	38,35	1,99	0,63
S3	37,73	37,73	37,73	37,73	38,30	38,30	38,30	35,55	37,25	1,20	0,38
S4	39,27	39,27	39,27	39,27	39,71	39,71	39,71	31,37	37,03	3,91	1,24
S5	39,07	39,07	39,07	39,07	38,63	38,63	38,63	37,36	38,43	0,76	0,24
S6	38,19	38,19	38,19	38,19	37,82	37,82	37,82	29,74	35,55	4,01	1,27
S7	39,89	39,89	39,89	39,89	38,83	38,83	38,83	38,81	39,25	0,55	0,17
S8	39,23	39,23	39,23	39,23	38,13	38,13	38,13	43,25	40,10	2,22	0,70
S9	36,98	36,98	36,98	36,98	37,47	37,47	37,47	39,42	37,86	1,10	0,35
S10	43,74	43,74	43,74	43,74	45,17	45,17	45,17	29,96	40,03	6,98	2,21
S11	36,98	36,98	36,98	36,98	37,86	37,86	37,86	30,23	35,22	3,47	1,10
S12	30,71	30,71	30,71	30,71	37,75	37,75	37,75	31,99	33,21	3,19	1,01

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela	23 - Cons	sumo abso	luto de pro	oteína da	ração pelo	grupo su	olementado	o W6.
W6	R1	R2	R3	R4	R5	Média	Desvio Padrão	Erro padrão
S1	34,36	34,36	34,36	33,07	33,07	41,22	8,77	2,77
S2	35,77	35,77	35,77	34,03	34,03	33,93	1,67	0,53
S3	33,46	33,46	33,46	34,41	34,41	33,67	0,66	0,21
S4	35,49	35,49	35,49	34,76	34,76	33,32	2,34	0,74
S5	32,58	32,58	32,58	31,64	31,64	33,62	2,39	0,75
S6	33,00	33,00	33,00	38,46	38,46	33,29	3,35	1,06
S7	33,53	33,53	33,53	33,66	33,66	32,86	0,99	0,31
S8	32,54	32,54	32,54	37,29	37,29	36,49	3,10	0,98
S9	31,06	31,06	31,06	31,20	31,20	32,12	1,93	0,61
S10	44,35	44,35	44,35	43,36	43,36	38,66	6,30	1,99
S11	30,73	30,73	30,73	30,51	30,51	29,26	2,07	0,65
S12	30,34	30,34	30,34	32,67	32,67	31,35	0,93	0,30

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5. S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 24 - Consumo relativo de proteína da ração pelo grupo controle (C).

С	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	11,55	12,74	11,24	10,99	11,13	12,15	0,84	0,26
S2	11,17	12,31	10,89	10,73	10,49	11,74	0,81	0,25
S3	10,31	11,59	9,91	10,12	9,54	10,95	0,91	0,29
S4	10,19	11,49	9,74	9,99	9,49	10,84	0,92	0,29
S5	9,98	11,08	9,55	9,83	9,39	10,53	0,78	0,25
S6	9,56	10,66	9,08	9,43	8,98	10,11	0,78	0,25
S7	9,50	10,53	8,93	9,10	8,81	10,01	0,73	0,23
S8	9,35	10,29	8,79	9,00	8,75	9,82	0,67	0,21
<b>S</b> 9	9,30	9,92	8,71	8,72	8,70	9,61	0,44	0,14
S10	8,39	9,07	8,22	8,30	8,13	8,73	0,49	0,15
S11	8,07	8,62	7,75	7,79	7,74	8,34	0,39	0,12
S12	8,13	8,77	7,87	8,03	7,95	8,45	0,45	0,14

**Legenda:** R1 - Rato 1; R2 - Rato 2; R3 - Rato 3; R4 - Rato 4; R5 - Rato 5. S1 - Semana 1; S2 - Semana 2; S3 - Semana 3; S4 - Semana 4; S5 - Semana 5; S6 - Semana 6; S7 - Semana 7; S8 - Semana 8; S9 - Semana 9; S10 - Semana 10; S11 - Semana 11; S12 - Semana 12.

Tabela 25 - Consumo relativo de proteína da ração pelo grupo suplementado W2.

W2	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	DP	EP
S1	11,24	11,40	10,63	11,08	11,54	11,45	12,27	11,41	11,16	10,72	11,29	0,46	0,15
S2	10,57	10,53	9,89	10,47	11,43	11,01	11,73	10,84	10,54	10,11	10,71	0,56	0,18
S3	10,06	10,46	9,51	9,98	10,67	10,81	11,31	10,60	10,13	9,84	10,34	0,53	0,17
S4	9,72	9,80	9,07	9,51	10,01	9,64	10,07	9,48	10,04	8,86	9,62	0,41	0,13
S5	9,06	9,07	8,26	8,77	9,23	9,02	9,03	8,45	8,58	8,02	8,75	0,41	0,13
S6	8,85	8,80	7,83	7,83	9,24	8,98	9,02	8,49	8,47	8,13	8,56	0,50	0,16
S7	8,83	8,61	7,79	8,53	8,94	8,44	8,63	8,05	7,91	8,23	8,40	0,39	0,12
S8	8,68	8,52	7,67	8,29	8,63	8,66	8,89	8,33	8,19	8,48	8,44	0,34	0,11
S9	8,68	8,39	7,52	8,28	8,54	7,92	8,33	7,86	7,66	7,76	8,09	0,40	0,13
S10	8,33	8,00	7,19	7,88	8,14	8,04	8,51	7,90	7,76	7,85	7,96	0,35	0,11
S11	7,92	7,53	6,82	7,54	7,70	7,90	8,31	7,67	7,67	7,57	7,66	0,38	0,12
S12	8,15	7,67	6,91	7,75	7,73	7,59	8,06	7,43	7,33	7,27	7,59	0,37	0,12

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; R8 – Rato 8; R9 – Rato 9; R10 – Rato 10; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 26 - Consumo relativo de proteína da ração pelo grupo suplementado W4.

W4	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Média	DP	EP
S1	10,25	9,84	9,90	10,24	11,59	10,81	11,50	12,12	2,62	0,83
S2	11,63	11,78	11,40	12,26	11,10	9,97	10,63	10,99	0,88	0,28
S3	9,91	10,35	9,65	10,51	10,48	9,41	10,16	10,02	0,54	0,17
S4	9,68	9,98	9,52	10,51	10,36	9,31	9,89	9,48	0,77	0,24
S5	9,05	9,32	9,00	9,91	9,59	8,56	9,17	9,56	0,67	0,21
S6	8,62	8,68	8,38	9,31	9,09	8,12	8,75	8,42	0,58	0,18
S7	8,55	8,88	8,41	9,44	8,93	7,96	8,52	8,99	0,66	0,21
S8	8,10	8,38	7,92	8,90	8,51	7,53	8,16	8,89	1,20	0,38
S9	7,48	7,74	7,52	8,22	8,27	7,26	7,75	8,19	0,84	0,27
S10	8,78	9,08	8,62	9,75	9,93	8,69	9,24	8,57	1,06	0,33
S11	7,32	7,59	7,17	8,12	8,27	7,21	7,71	7,54	0,53	0,17
S12	5,93	6,12	5,78	6,56	7,99	7,00	7,48	6,94	0,81	0,26

Tabela 27 - Consumo relativo de proteína da ração pelo grupo suplementado W6.

W6	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	11,39	12,90	12,23	10,85	12,27	13,58	2,17	0,69
S2	11,22	12,65	11,84	10,55	12,12	10,63	1,46	0,46
S3	9,80	11,18	10,40	9,87	11,58	9,65	1,32	0,42
S4	9,79	11,22	10,43	9,39	11,13	9,46	1,36	0,43
S5	8,59	9,86	9,25	4,62	9,72	8,78	1,73	0,55
S6	8,40	9,71	9,07	9,45	11,55	8,83	1,37	0,43
S7	8,32	9,51	8,97	8,01	9,81	8,48	0,84	0,27
S8	8,00	9,02	8,46	8,54	10,70	9,19	0,88	0,28
S9	7,35	8,36	7,85	7,04	8,76	7,89	0,70	0,22
S10	10,45	11,57	10,99	9,52	11,90	9,39	1,92	0,61
S11	7,08	8,00	7,59	6,60	8,38	7,10	0,83	0,26
S12	6,83	7,63	7,38	6,90	8,70	7,45	0,69	0,22

Tabela 28 - Consumo relativo de água pelo grupo controle (C).

С	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	64,72	71,35	62,95	61,54	62,38	67,49	3,55	1,12
S2	75,01	82,65	73,09	72,03	70,39	68,89	6,39	2,02
S3	65,20	73,32	62,67	63,99	60,33	62,47	6,21	1,96
S4	60,04	67,69	57,36	58,86	55,91	61,82	9,10	2,88
S5	58,86	65,35	56,33	57,94	55,41	59,48	4,39	1,39
S6	58,97	65,79	55,99	58,20	55,40	61,91	7,54	2,38
<b>S</b> 7	51,82	57,42	48,72	49,66	48,05	54,20	5,18	1,64
S8	48,71	53,63	45,82	46,92	45,58	54,35	6,49	2,05
S9	48,66	51,90	45,54	45,62	45,49	50,67	4,00	1,27
S10	45,59	49,33	44,68	45,12	44,21	50,20	3,87	1,22
S11	44,28	47,31	42,51	42,73	42,47	50,45	4,00	1,26
S12	31,89	34,37	30,87	31,47	31,17	43,24	6,29	1,99

Tabela 29 - Consumo relativo de água pelo grupo suplementado W2.

W2	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	DP	EP
S1	91,77	93,10	86,82	90,53	94,24	67,08	71,86	66,84	65,34	62,76	79,03	13,25	4,19
S2	75,78	75,50	70,90	75,09	81,95	72,95	77,70	71,80	69,82	66,97	73,85	4,29	1,36
S3	63,31	65,79	59,84	62,81	67,13	70,46	73,74	69,06	66,04	64,15	66,23	4,06	1,29
S4	62,12	62,62	57,92	60,76	63,98	66,00	68,94	64,87	68,76	60,68	63,66	3,57	1,13
S5	60,84	60,88	55,45	58,91	62,02	70,97	71,07	66,51	67,49	63,11	63,72	5,16	1,63
S6	53,60	53,29	47,43	47,40	55,97	68,51	68,85	64,83	64,63	62,02	58,65	8,17	2,58
S7	47,11	45,96	41,56	45,54	47,72	51,23	52,37	48,83	48,01	49,92	47,83	3,10	0,98
S8	48,90	47,99	43,21	46,71	48,62	54,80	56,25	52,67	51,79	53,64	50,46	4,05	1,28
S9	52,11	50,35	45,13	49,70	51,27	57,74	60,76	57,33	55,83	56,59	53,68	4,73	1,50
S10	48,18	46,55	41,73	45,95	47,41	53,18	55,96	52,80	51,42	52,12	49,53	4,28	1,35
S11	45,52	43,26	39,15	43,30	44,25	47,48	49,97	46,11	46,12	45,51	45,07	2,88	0,91
S12	40,94	38,55	34,74	38,95	38,86	50,47	53,56	49,41	48,75	48,30	44,25	6,49	2,05

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; R8 – Rato 8; R9 – Rato 9; R10 – Rato 10; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12.

Tabela 30 - Consumo relativo de água pelo grupo suplementado W4.

W4	R1	R2	R3	R4	R4	R5	R6	R7	Média	DP	EP
S1	61,79	59,31	59,71	61,75	74,20	69,23	73,58	87,86	75,19	16,74	5,29
S2	59,13	59,90	57,96	62,32	76,06	68,34	72,85	72,41	69,94	10,23	3,23
S3	58,70	61,31	57,14	62,25	73,69	66,14	71,42	86,63	73,82	16,53	5,23
S4	60,88	62,79	59,89	66,13	70,40	63,32	67,26	72,83	67,76	6,39	2,02
S5	53,51	55,08	53,19	58,61	64,75	57,75	61,88	80,84	65,79	13,40	4,24
S6	50,93	51,27	49,47	55,02	62,98	56,22	60,65	64,12	58,41	6,67	2,11
S7	49,07	50,97	48,30	54,19	61,49	54,83	58,69	66,55	57,82	7,55	2,39
S8	42,14	43,59	41,19	46,28	62,92	55,69	60,32	66,94	55,03	10,89	3,44
S9	45,12	46,70	45,33	49,58	52,28	45,92	49,03	57,74	49,56	4,42	1,40
S10	43,50	44,97	42,71	48,31	61,14	53,48	56,85	54,08	51,84	6,68	2,11
S11	40,20	41,71	39,39	44,62	51,95	45,35	48,47	65,69	52,03	13,10	4,14
S12	34,77	35,89	33,90	38,44	55,48	48,58	51,91	58,62	48,19	11,61	3,67

Tabela 31 - Consumo relativo de água pelo grupo suplementado W6.

W6	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	60,66	68,69	65,10	64,22	72,58	66,03	6,78	2,14
S2	45,42	51,17	47,90	55,50	63,77	59,51	9,94	3,14
S3	44,38	50,64	47,08	48,64	57,05	58,17	11,16	3,53
S4	43,78	50,21	46,65	54,42	64,50	57,55	9,97	3,15
S5	39,86	45,78	42,93	26,67	56,08	49,27	12,85	4,06
S6	36,13	41,76	39,01	46,68	57,06	49,31	9,84	3,11
S7	35,38	40,41	38,10	45,83	56,09	47,03	8,23	2,60
S8	32,60	36,71	34,46	45,22	56,66	43,72	7,89	2,49
S9	37,84	43,03	40,44	36,55	45,47	45,39	6,50	2,06
S10	49,02	54,24	51,52	50,52	63,10	52,42	4,75	1,50
S11	45,39	51,30	48,68	37,22	47,21	46,04	5,28	1,67
S12	46,57	52,05	50,36	34,42	43,40	47,59	6,53	2,06

Tabela 32 - Consumo absoluto de água grupo controle (C).

С	R1	R2	R3	R4	R5	Média	DP	EP
S1	193	193	193	193	193	238,08	37,98	12,01
S2	232	232	232	232	232	256,77	22,44	7,10
S3	210	210	210	210	210	236,54	23,14	7,32
S4	203	203	203	203	203	243,08	39,61	12,53
S5	205	205	205	205	205	239,54	28,57	9,04
S6	215	215	215	215	215	252,69	35,54	11,24
S7	190,8	190,8	190,8	190,8	190,8	223,77	28,48	9,01
S8	184,6	184,6	184,6	184,6	184,6	225,23	36,16	11,44
S9	187	187	187	187	187	214,23	22,62	7,15
S10	183	183	183	183	183	220,92	31,95	10,10
S11	177,6	177,6	177,6	177,6	177,6	224,85	38,96	12,32
S12	132,4	132,4	132,4	132,4	132,4	189,08	46,94	14,84

Tabela 33 - Consumo absoluto de água grupo suplementado W2.

W2	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	DP	EP
S1	301	301	301	301	301	226	226	226	226	226	263,50	39,53	12,50
S2	261	261	261	261	261	261	261	261	261	261	261,00	0,00	0,00
S3	231	231	231	231	231	269	269	269	269	269	250,00	20,03	6,33
S4	233	233	233	233	233	269	269	269	269	269	251,00	18,97	6,00
S5	233	233	233	233	233	285	285	285	285	285	259,00	27,41	8,67
S6	210	210	210	210	210	292	292	292	292	292	251,00	43,22	13,67
S7	188,2	188,2	188,2	188,2	188,2	226,2	226,2	226,2	226,2	226,2	207,20	20,03	6,33
S8	200,2	200,2	200,2	200,2	200,2	254,4	254,4	254,4	254,4	254,4	227,30	28,57	9,03
S9	217,4	217,4	217,4	217,4	217,4	281,2	281,2	281,2	281,2	281,2	249,30	33,63	10,63
S10	201	201	201	201	201	259	259	259	259	259	230,00	30,57	9,67
S11	195	195	195	195	195	240	240	240	240	240	217,50	23,72	7,50
S12	176,8	176,8	176,8	176,8	176,8	262,8	262,8	262,8	262,8	262,8	219,80	45,33	14,33

**Legenda:** R1 – Rato 1; R2 – Rato 2; R3 – Rato 3; R4 – Rato 4; R5 – Rato 5; R6 – Rato 6; R7 – Rato 7; R8 – Rato 8; R9 – Rato 9; R10 – Rato 10; S1 – Semana 1; S2 – Semana 2; S3 – Semana 3; S4 – Semana 4; S5 – Semana 5; S6 – Semana 6; S7 – Semana 7; S8 – Semana 8; S9 – Semana 9; S10 – Semana 10; S11 – Semana 11; S12 – Semana 12

Tabela 34 - Consumo absoluto de água pelo grupo suplementado W4.

W4	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Média	DP	EP
S1	195	195	195	195	245,75	245,75	245,75	242,93	47,61	15,06
S2	205,35	205,35	205,35	205,35	261,25	261,25	261,25	244,52	34,57	10,93
S3	223,4	223,4	223,4	223,4	269,25	269,25	269,25	273,34	52,71	16,67
S4	247	247	247	247	270	270	270	263,2	14,32	4,53
S5	231	231	231	231	260,75	260,75	260,75	262,13	32,31	10,22
S6	225,6	225,6	225,6	225,6	262	262	262	253,64	28,29	8,95
S7	229	229	229	229	267,5	267,5	267,5	251,95	19,75	6,25
S8	204	204	204	204	282	282	282	248,1	38,13	12,06
S9	223	223	223	223	237	237	237	233,8	9,85	3,12
S10	216,6	216,6	216,6	216,6	278	278	278	239,64	27,31	8,64
S11	203,2	203,2	203,2	203,2	238	238	238	238,78	36,58	11,57
S12	180	180	180	180	262	262	262	228,6	41,84	13,23
	S1 S2 S3 S4 S5 S6 S7 S8 S9 S10 S11	S1       195         S2       205,35         S3       223,4         S4       247         S5       231         S6       225,6         S7       229         S8       204         S9       223         S10       216,6         S11       203,2	S1       195       195         S2       205,35       205,35         S3       223,4       223,4         S4       247       247         S5       231       231         S6       225,6       225,6         S7       229       229         S8       204       204         S9       223       223         S10       216,6       216,6         S11       203,2       203,2	S1       195       195       195         S2       205,35       205,35       205,35         S3       223,4       223,4       223,4         S4       247       247       247         S5       231       231       231         S6       225,6       225,6       225,6         S7       229       229       229         S8       204       204       204         S9       223       223       223         S10       216,6       216,6       216,6         S11       203,2       203,2       203,2	S1       195       195       195       195         S2       205,35       205,35       205,35       205,35         S3       223,4       223,4       223,4       223,4         S4       247       247       247       247         S5       231       231       231       231       231         S6       225,6       225,6       225,6       225,6       225,6         S7       229       229       229       229         S8       204       204       204       204         S9       223       223       223       223         S10       216,6       216,6       216,6       216,6         S11       203,2       203,2       203,2       203,2	S1       195       195       195       195       245,75         S2       205,35       205,35       205,35       205,35       261,25         S3       223,4       223,4       223,4       223,4       269,25         S4       247       247       247       270         S5       231       231       231       231       260,75         S6       225,6       225,6       225,6       225,6       262         S7       229       229       229       267,5         S8       204       204       204       204       282         S9       223       223       223       223       237         S10       216,6       216,6       216,6       216,6       278         S11       203,2       203,2       203,2       203,2       238	S1       195       195       195       195       245,75       245,75         S2       205,35       205,35       205,35       205,35       261,25       261,25         S3       223,4       223,4       223,4       269,25       269,25         S4       247       247       247       270       270         S5       231       231       231       231       260,75       260,75         S6       225,6       225,6       225,6       262       262         S7       229       229       229       267,5       267,5         S8       204       204       204       204       282       282         S9       223       223       223       237       237         S10       216,6       216,6       216,6       216,6       278       278         S11       203,2       203,2       203,2       203,2       238       238	S1       195       195       195       195       245,75       245,75       245,75         S2       205,35       205,35       205,35       205,35       261,25       261,25       261,25         S3       223,4       223,4       223,4       269,25       269,25       269,25         S4       247       247       247       270       270       270         S5       231       231       231       231       260,75       260,75       260,75         S6       225,6       225,6       225,6       225,6       262       262       262         S7       229       229       229       267,5       267,5       267,5         S8       204       204       204       282       282       282         S9       223       223       223       237       237       237         S10       216,6       216,6       216,6       216,6       278       278       278         S11       203,2       203,2       203,2       203,2       238       238       238	S1       195       195       195       195       245,75       245,75       245,75       245,75       242,93         S2       205,35       205,35       205,35       205,35       261,25       261,25       261,25       244,52         S3       223,4       223,4       223,4       269,25       269,25       269,25       273,34         S4       247       247       247       270       270       270       263,2         S5       231       231       231       231       260,75       260,75       260,75       262,13         S6       225,6       225,6       225,6       262       262       262       253,64         S7       229       229       229       267,5       267,5       267,5       251,95         S8       204       204       204       204       282       282       282       248,1         S9       223       223       223       237       237       237       237,2       233,8         S10       216,6       216,6       216,6       216,6       278       278       278       239,64         S11       203,2       203,2       203,2	S1       195       195       195       195       245,75       245,75       245,75       242,93       47,61         S2       205,35       205,35       205,35       205,35       261,25       261,25       244,52       34,57         S3       223,4       223,4       223,4       269,25       269,25       269,25       273,34       52,71         S4       247       247       247       270       270       270       263,2       14,32         S5       231       231       231       231       260,75       260,75       260,75       262,13       32,31         S6       225,6       225,6       225,6       262       262       262       253,64       28,29         S7       229       229       229       267,5       267,5       267,5       251,95       19,75         S8       204       204       204       282       282       282       248,1       38,13         S9       223       223       223       237       237       237       233,8       9,85         S10       216,6       216,6       216,6       216,6       278       278       278       239,64

Tabela 35 - Consumo absoluto de água pelo grupo suplementado W6.

	D1	D2		D4	DE	Mádia	Desvio	Erro
W6	R1	R2	R3	R4	R5	Média	Padrão	padrão
S1	183	183	183	195,67	195,67	199,05	24,72	7,82
S2	144,75	144,75	144,75	179	179	193,68	45,09	14,26
S3	151,5	151,5	151,5	169,5	169,5	200,65	51,43	16,26
S4	158,75	158,75	158,75	201,5	201,5	204,73	38,81	12,27
S5	151,25	151,25	151,25	182,5	182,5	189,81	38,87	12,29
S6	142	142	142	190	190	187,52	39,78	12,58
S7	142,5	142,5	142,5	192,5	192,5	183,24	33,25	10,51
S8	132,5	132,5	132,5	197,5	197,5	173,89	31,17	9,86
S9	160	160	160	162	162	185,56	29,39	9,29
S10	208	208	208	230	230	216,67	8,59	2,72
S11	197	197	197	172	172	190,11	16,97	5,37
S12	207	207	207	163	163	200,33	21,83	6,90

Tabela 36 - Valores de análises de Alanina Aminotransferase.

_											
_	Grupos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
	С	64,28	69,56	68,68	63,84	83,65	120,63	177,42	180,02	199,87	210,00
	W2	51,07	48,43	42,26	51,07	55,47	43,14	36,98	33,46	32,58	33,46
	W4	19,37	11,89	19,37	14,53	28,62	19,37	22,89			
	W6	19,81	14,09	18,05	7,92	15,41					

Tabela 37 - Valores de análises de Aspartato Aminotransferase.

Grupos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
С	198,95	242,2	144,46	122,83	130,62	103,8	154,84	126,29	114,18	107,26
W2	140,13	115,05	109,86	136,07	185,11	152,24	110,72	124,56	147,05	150,51
W4	44,55	36,76	49,31	41,09	46,28	43,68	38,49			
W6	44,12	33,30	51,47	35,46	28,55					

Tabela 38 - Valores de análises de Gama glutamil transferase.

Grupos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
С	1,3020	1,2090	1,4415	1,4415	1,3950	0,2325	0,2325	0,2325	0,2325	0,2790
W2	1,4880	1,5345	1,7670	1,4415	1,4880	1,4415	1,3950	1,5810	1,7670	1,7670
W4	0,9765	1,1625	1,2555	1,2090	1,2555	1,1160	1,1160			
W6	0,2325	0,2325	0,2790	0,8370	1,1160					

Tabela 39 - Valores de análises de Fosfatase Alcalina.

Grupos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
С	96,740	74,628	95,358	69,100	44,224	107,796	74,628	85,684	102,268	103,650
W2	49,752	45,606	6,910	45,606	19,348	6,910	9,674	24,876	30,404	35,932
W4	135,436	91,212	77,392	93,976	88,448	88,448	91,212			
W6	69,100	63,572	62,190	58,044	175,514					

Tabela 40 - Valores de análises de Billirubina.

Grupos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
С	1,57	1,52	1,72	1,57	1,64	1,80	1,82	2,10	1,72	2,06
W2	1,61	1,88	1,78	1,79	1,88	1,69	1,76	1,70	1,55	1,67
W4	1,67	1,61	1,64	1,64	1,30	1,63	1,55			
W6	1,45	1,43	1,45	1,42	1,63					

Tabela 41 - Valores de análises de Proteínas totais.

Grupos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
С	7,64	7,29	6,82	6,97	6,47	8,47	8,29	8,85	7,88	9,20
W2	6,26	7,11	7,91	7,50	6,58	8,32	6,50	7,02	5,94	9,47
W4	5,82	7,08	7,67	5,67	8,29	5,91	6,29			
W6	4,73	5,47	5,41	6,50	5,29					

Tabela 42 - Valores de análises de Albumina.

Grupos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
С	1,94	3,08	2,99	2,96	3,12	3,26	2,87	3,39	3,16	3,06
W2	2,18	2,76	3,09	2,98	3,25	2,61	2,29	2,36	2,79	2,69
W4	2,07	3,08	3,06	2,27	3,34	2,13	2,21			
W6	2,31	2,37	2,03	2,76	1,90					