

HAIRA GUEDES LÚCIO

**BARRA ALIMENTÍCIA DE SABOR SALGADO RICA EM PROTEÍNA:
DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E EFEITO NO DESEMPENHO
FÍSICO, HIPERTROFIA MUSCULAR E VARIÁVEIS METABÓLICAS EM
RATOS SUBMETIDOS OU NÃO AO EXERCÍCIO RESISTIDO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título do *Magister Scientiae*.

Orientadora: Hércia Stampini Duarte Martino

Coorientadores: Antônio José Natali

Maria Inês Dantas Bastiani

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

L938b
2020

Lúcio, Háira Guedes, 1995-

Barra alimentícia de sabor salgado rica em proteína :
desenvolvimento, caracterização e efeito no desempenho físico,
hipertrofia muscular e variáveis metabólicas em ratos
submetidos ou não ao exercício resistido / Háira Guedes Lúcio. –
Viçosa, MG, 2020.

126 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Hércia Stampini Duarte Martino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Suplementos proteicos. 2. Hipertrofia. 3. Alimentos
funcionais. 4. Exercícios físicos. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de
Pós-Graduação em Ciência da Nutrição. II. Título.

CDD 22. ed. 613.282

HAIRA GUEDES LÚCIO

**BARRA ALIMENTÍCIA DE SABOR SALGADO RICA EM PROTEÍNA:
DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E EFEITO NO DESEMPENHO
FÍSICO, HIPERTROFIA MUSCULAR E VARIÁVEIS METABÓLICAS EM
RATOS SUBMETIDOS OU NÃO AO EXERCÍCIO RESISTIDO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título do *Magister Scientiae*.

APROVADA: 17 de fevereiro de 2020.

Assentimento:

Haira Guedes Lúcio
Autora

Hércia Stampini Duarte Martino
Orientadora

Dedico a você, mãe.

Esta e cada uma das vitórias que tenho na vida.

Sem você, nada, absolutamente nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me dar força e resiliência para chegar até aqui, principalmente nos momentos em que não acreditei que teria forças para continuar.

À minha mãe, por sempre acreditar em mim, nos meus sonhos, e por fazer o impossível para que todos eles se realizassem com maestria. Obrigada por não poupar esforços para ver um sorriso no meu rosto e pelos olhos marejados a cada conquista. Nós somos uma só.

À minha Prof^a orientadora, Dra. Hercia Stampini Duarte Martino, por acreditar no meu potencial e que eu seria capaz de somar. Por sonhar junto e tornar esse sonho possível. Obrigada por me permitir crescer a cada dia com seus ensinamentos, paciência e zelo.

À minha coorientadora Dra. Maria Inês Dantas Bastiani, por estarmos juntas desde o início desta empreitada, pelo conhecimento transmitido e pelas experiências compartilhadas.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Antônio José Natali, pela parceria, disponibilidade e apoio durante a pesquisa.

Ao Laboratório de Nutrição Experimental, minha querida família dentro da Universidade, onde nos acolhem e nos ajudam sem medir esforços. Em especial à Renata, pela disponibilidade, apoio, parceria e por toda a experiência e conhecimento compartilhado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

À minha família, que sempre entendeu minhas ausências, sempre acreditaram e sonharam junto comigo, e agora o sonho se transforma em realidade!

À minha casa, República Savana, moradoras e ex-moradoras, que representa meu lar e me abraçam, renovando todos os dias minha energia e me incentivando a continuar.

Aos meus amigos, que sempre estiveram lá quando precisei e preciso, seja para dividir as lágrimas ou os sorrisos, a vida. São meu grande tesouro. Em especial aqueles que dispuseram inúmeras vezes do seu tempo, boa vontade, finais de semana me ajudando a concluir cada etapa deste processo.

Aos queridos Thauana, Iago e Jaquicilane, voluntários fundamentais durante o experimento. Não tenho palavras para agradecer tamanho apoio!

Ao Luciano e ao Leôncio, alunos do BioEx, pelo apoio incondicional e disponibilidade em me ajudar nos momentos de apuros!

Ao PPGCN e ao Departamento de Nutrição e Saúde, pelos ensinamentos, pela ajuda, companheirismo, e por expandirem todo o conhecimento e pela realização do sonho da Pós-Graduação Stricto Sensu.

Agradecer a cada um dos pesquisadores que fizeram e fazem ciência no Brasil e no mundo. Ela é fundamental para o desenvolvimento de nós, humanos.

À Viçosa, por se transformar em meu lar.

*“Enquanto houver perguntas e não
houver respostas, continuarei a escrever”*

Clarice Lispector

RESUMO

LÚCIO, Haira Guedes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Barra alimentícia de sabor salgado rica em proteína: desenvolvimento, caracterização e efeito no desempenho físico, hipertrofia muscular e variáveis metabólicas em ratos submetidos ou não ao exercício resistido.** Orientadora: Hercia Stampini Duarte Martino. Coorientadores: Antônio José Natali e Maria Inês Dantas Bastiani.

O consumo de uma alimentação balanceada é importante para atender as necessidades nutricionais e melhorar o desempenho físico e a resposta do organismo ao exercício, estimulando a síntese proteica. O exercício físico pode causar desequilíbrio metabólico e alterações no estado REDOX, ativando o sistema de defesa antioxidante endógeno. Assim, os objetivos deste estudo foram: desenvolver barra com alto conteúdo de proteínas que apresentasse valor nutricional agregado e avaliar o efeito do consumo desta barra no consumo alimentar, equilíbrio metabólico, estresse oxidativo, desempenho físico e hipertrofia muscular de ratos *Wistar* treinados e não treinados. Foram desenvolvidas três variações de sabores salgados para a barra alimentícia e estas foram submetidas à análise sensorial. No sabor controle da barra desenvolvida foi realizada análise de composição centesimal (AOAC, 2012), conteúdo de fenólicos totais (Folin-Cicalteau), análise de antioxidantes (DPPH) e perfil de ácidos graxos (Cromatografia gasosa). Ratos *Wistar* (n = 8/grupo) machos adultos jovens, foram submetidos ou não ao exercício de força resistido, e foram divididos em quatro grupos experimentais, recebendo dietas padrão (AIN-93M) ou dietas-padrão com substituição de 20% do aporte proteico proveniente da barra alimentícia: SED (sedentário + dieta padrão), SEDP (Sedentário + dieta padrão + barra); TRE (treinado + dieta padrão) e TREP (treinado + dieta padrão), 5x/semana, durante oito semanas. Avaliou-se o efeito sob medidas de consumo alimentar, antropométricas e de composição corporal, desempenho físico e hipertrofia muscular, como expressão gênica de Proteína Quinase B (AKT) e glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK-3 β) e quantificação de AKTp por imunoensaio), além de marcadores bioquímicos e de estresse oxidativo. A barra alimentícia apresentou 44,9% de proteínas e 23,0% de lipídios. O conteúdo total de fenólicos totais foi 0,37mg GAE/g de barra. Os antioxidantes presentes na amostra equivaleram a 1,57 mmol/TROLOX/g de barra. O ácido graxo majoritário presente foi o ácido oleico (45,8%) seguido, respectivamente pelos ácidos linoleico (16,83%), palmítico (6,59%) e decosanoico (4,03%). Quanto ao ensaio

biológico, os animais alimentados com a barra alimentícia apresentaram menor consumo alimentar ($p < 0,05$), quando comparados aos alimentados com dieta padrão, sem diferença para o consumo proteico ($p > 0,05$), diferente do resultado esperado. O consumo de lipídios nos grupos alimentados com barra foi superior ($p < 0,05$) aos demais. Quanto às medidas biométricas, não houveram diferenças ($p > 0,05$) entre os grupos para ganho de peso, IMC e Índice de Lee. A glicemia, marcadores de função hepática e renal também permaneceram inalterados ($p > 0,05$). Quanto às enzimas e marcadores de estresse oxidativo, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais. A oferta proteica proveniente da barra melhorou o desempenho físico ($p < 0,05$) dos animais de acordo com a relação carga/peso, e os resultados histológicos demonstraram que a oferta proteica, quando avaliada como componente principal, exerceu influência sobre os grupos alimentados com barra na promoção da hipertrofia (% de miócitos e de matriz extracelular). Entretanto, a interação entre os fatores principais proteína e atividade física não foi capaz de promover maior hipertrofia e aumento da atividade de enzimas quando comparada ao grupo treinado, não aumentando a expressão gênica e quantificação de AKT. Para GSK-3 β , a oferta proteica, bem como o exercício resistido levaram a uma redução da expressão gênica da proteína. Em conclusão, o produto desenvolvido obteve boa aceitação, apresentou alegações nutricionais, e *in vivo* auxiliou na redução do consumo alimentar, manteve o controle metabólico, melhorou o desempenho físico e induziu alterações em marcadores de hipertrofia muscular de animais adultos jovens submetidos ao exercício resistido.

Palavras-chave: Barra Proteica Salgada. Hipertrofia. Alimentos Funcionais. Atividade Física.

ABSTRACT

LÚCIO, Haira Guedes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Protein-rich salted bar: development, characterization and effect on physical performance, muscle hypertrophy and metabolic variables in subjects submitted or not to resisted exercise.** Advisor: Hercia Stampini Duarte Martino. Co-advisors: Antônio José Natali and Maria Inês Dantas Bastiani.

The consumption of a balanced diet is important to meet nutritional needs and improve physical performance and the body's response to exercise, stimulating protein synthesis. Physical exercise can cause metabolic imbalance and changes in the REDOX state, activating the endogenous antioxidant defense system. Thus, objectives of this study were: to develop a bar with high protein, lipids and dietary fiber and aggregated nutritional value and to evaluate the effect of consumption of this bar on food consumption, metabolic balance, oxidative stress, physical performance and muscle hypertrophy of trained and untrained Wistar rats. Three flavors were developed for the food bar and these were subjected to sensory analysis. Analysis of proximate composition (AOAC, 2012), content of total phenolics (Folin-Cicalteau), analysis of antioxidants (DPPH) and fatty acid profile (gas chromatography) was realized in control flavor food bar. Young adult male Wistar rats ($n = 8$ / group) were submitted to resistance exercise or not, were divided into four experimental groups, which received standard diets (AIN-93M) or standard diets with replacement of 20% of protein from the food bar: SED (sedentary + standard diet), SEDP (Sedentary + standard diet + bar); TRE (trained + standard diet) and TREP (trained + standard diet), 5x / week, for eight weeks. The effect was evaluated under measures of food consumption, anthropometric and body composition, physical performance, muscle hypertrophy (gene expression of AKT and glucogen sintase kinase 3β -GSK- 3β - and quantification of protein kinase B -AKTp- by immunoassay), biochemical markers and oxidative stress. Food bar showed 44.9% of proteins, 23.0% of lipids and 9.47% of dietary fiber. Total phenolic content was 0.37mg GAE/g bar. Antioxidants present in the sample were equivalent to 1.57 mmol / TROLOX / g of bar. The major fatty acid present was oleic acid (45.8%) followed, respectively by linoleic acid (16.83%), palmitic acid (6.59%) and decosanoic acid (4.03%). As for the biological test, animals fed with the food bar showed lower food consumption ($p < 0.05$), when compared to those fed a standard diet, with no difference for protein consumption

($p > 0.05$), different from the expected result. Consumption of lipids in the groups fed with food bar was higher ($p < 0.05$) than the others experimental groups. Weight gain, BMI and Lee's index, blood glucose, markers of liver and kidney function and oxidative stress markers did not change ($p > 0.05$) among experimental groups. The food bar improved the physical performance ($p < 0.05$) of the animals according to the load/weight ratio, and the histological results showed that the protein supply from food bar, when evaluated as the main component, had an influence on the groups fed with bar in promoting hypertrophy (% of myocytes and extracellular matrix). However, the interaction between the main factors protein and physical activity was not able to promote increase hypertrophy and AKT gene expression and protein quantification relative to the trained group. However, food bar associated with resistance exercise decreased (< 0.05) GSK-3 β gene expression. In conclusion, developed food bar showed good acceptance and nutritional claims, and in in young adult animals submitted to resistance exercise the food bar decreased food consumption, maintained metabolic control, improved physical performance and increased muscle hypertrophy markers.

Key words: Salty Protein Bar. Hypertrophy. Functional Foods. Physical Activity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Delineamento experimental do estudo.	72
Figura 2. Familiarização dos animais com a escada vertical.	73
Figura 3. Composição química, % das DRI's, conteúdo energético, de fenólicos e antioxidantes da barra alimentícia com alto conteúdo de proteínas.	101
Figura 4. Análise do perfil e quantificação de ácidos graxos da barra alimentícia.	102
Figura 5. Efeito da oferta proteica proveniente da barra alimentícia no desempenho físico e marcadores de hipertrofia e atrofia.....	106
Figura 6. Análise histológica do bíceps dos grupos experimentais.	107
Figura 7. Marcadores de estresse oxidativo e capacidade antioxidante total do plasma.....	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição, macronutrientes e densidade calórica das dietas experimentais (g/kg).	72
Tabela 2. Composição, macronutrientes e densidade calórica das dietas experimentais (g/kg).	95
Tabela 3. Ingestão alimentar e proteica, coeficiente de eficiência alimentar, proteica e energética dos animais experimentais.	104
Tabela 4. Medidas e índices biométricos dos animais experimentais.	105
Tabela 5. Marcadores bioquímicos dos animais experimentais.	109

LISTA DE ABREVIATURAS

AIN-93M – Dieta padrão de manutenção para roedores proposta por Reeves et al (1993)

AKT – Proteína Quinase B

AKTp – Proteína Quinase B fosforilada

ALT- Alanina aminotransferase

AMP - Adenosina 3',5'-monofosfato

AST - Aspartato aminotransferase

CHO - Carboidratos

DC – Densidade Calórica

DNA- Ácido desoxirribonucleico

EAA- Aminoácidos essenciais

EROS – Espécies reativas de oxigênio

FAMEs – ácidos graxos

FID - detector por ionização de chama

GLP-1 – Peptídeo como glucagon -1

GSK-3 β – Glicogênio Sintase Quinase 3 beta

HSP70 – Proteínas de choque térmico (chaperonas) 70kDa

IMC – Índice de Massa Corporal

LEU - Leucina

LIP- Lipídios

MDA - Malondialdeído

NF κ B – Fator Nuclear kappa B

NO – Óxido Nítrico

PTN – Proteína

REDOX – Balanço redutor oxidativo

PYY – Peptídeo YY

SED - Grupo sedentário alimentado com dieta padrão para roedores

SEDP - Grupo sedentário alimentado com dieta padrão para roedores + suplementação de 30% de proteína proveniente da barra

SOD – Superóxido dismutase

TAC – Capacidade antioxidante total

TCM – Teste de Carga Máxima

TNF α – Fator de necrose tumoral alfa

TRE – Grupo treinado alimentado com dieta padrão para roedores

TREP – Grupo treinado alimentado com dieta padrão para roedores + suplementação de 30% de proteína proveniente da barra

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
REFERÊNCIAS	21
2. OBJETIVOS	24
2.1. Objetivo Geral	24
2.2. Objetivos Específicos	24
3. HIPÓTESE	25
Objetivo 1: Desenvolvimento, caracterização química e aceitação por consumidores em potencial da barra alimentícia.	25
Objetivo 2: Ensaio biológico.....	25
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
4.1. Exercício de força resistido e hipertrofia	26
4.2. Sinalização de hipertrofia e atrofia muscular.....	27
4.3. Estresse oxidativo e exercício físico	29
4.4. Efeito dos antioxidantes no combate ao estresse oxidativo em resposta ao exercício físico	31
4.5. Oferta de macronutrientes e exercício.....	33
4.5.1. Oferta proteica, exercício resistido e síntese muscular	35
4.6. Barras alimentícias	38
4.6.1. Ingredientes utilizados em barras alimentícias para desportistas	39
4.6.2. Barras alimentícias com alto conteúdo de proteínas e seus efeitos metabólicos.....	42
4.7. Consumo de macronutrientes e apetite	44
4.7.1. Consumo de proteína e saciedade.....	44
4.7.2. Lipídios e saciedade	45
4.8. Lipídios e efeitos benéficos à saúde associados à prática de atividade física	47
4.8.1. Ácido Linolênico (ω 3).....	47
4.8.2. Ácido Linoleico (ω 6).....	48
4.8.3. Ácido Oleico (ω 9)	49
REFERÊNCIAS:.....	50
METODOLOGIA.....	64
5.1. Desenvolvimento do produto	65
5.1.1. Seleção da matéria-prima	65
5.2. Análise de composição centesimal.....	66
5.2.1. Umidade	66
5.2.2. Cinzas	66
5.2.3. Lipídios.....	66
5.2.4. Proteínas	66
5.2.5. Fibra alimentar.....	67
5.2.6. Carboidratos	67
5.3. Atividade Antioxidante	67
5.3.1. Preparo do extrato.....	67

5.3.2. Atividade de remoção de radical (DPPH)	67
5.4. Análise de fenólicos totais	68
5.5. Perfil de Ácidos Graxos	68
5.6. Quantificação de leucina e isoleucina	69
5.7. Estudo Experimental	69
5.7.1. Alocação dos animais e duração do experimento.....	69
5.7.2. Dietas experimentais	70
5.7.4. Definição do tipo de atividade física e intensidade	72
5.7.4.1. Familiarização com a Escada Vertical.....	72
5.7.4.2. Teste de Peso Máximo Carregado (PMC)	73
5.7.4.3. Protocolos de Treinamento de Força Resistido	73
Figura 2. Delineamento experimental do estudo.	75
5.7.5. Cálculo amostral	76
5.7.6. Medidas e marcadores biométricos	76
5.7.6.1. Índice de massa corporal.....	76
5.7.6.2. Circunferência abdominal.....	77
5.7.6.3. Índice de Lee.....	77
5.7.6.4. Coeficiente de eficiência alimentar.....	77
5.7.6.5. Coeficiente de eficiência energética	77
5.7.6.5. Coeficiente de eficiência proteica.....	77
5.8. Eutanásia	78
5.9. Análise do desempenho físico.....	78
5.10. Análises bioquímicas	78
5.11. Avaliação da atividade antioxidante	78
5.11.1. Capacidade antioxidante total.....	79
5.11.2. Preparo do homogeneizado	79
5.11.3. Atividade da superóxido dismutase.....	79
5.11.4. Malondialdeído.....	80
5.11.5. Óxido nítrico.....	80
5.12. Expressão gênica no músculo	80
5.13. Quantificação de AKT	81
5.14. Análise histológica das fibras musculares.....	81
5.15. Análise Estatística	82
5.16. Aspectos Éticos	82
REFERÊNCIAS	83
American Egg Board. Chicago, IL. 2019.....	83
6. RESULTADOS	86
ARTIGO	86
RESUMO	86
1. INTRODUÇÃO	88
2. METODOLOGIA.....	90
2.1. Desenvolvimento da barra.....	90
2.2. Análise de Composição Centesimal	90
2.3. Determinação da atividade antioxidante da barra proteica.....	91

2.4.	Determinação do teor total de compostos fenólicos.....	91
2.5.	Análise e quantificação do perfil de ácidos graxos	92
2.6.	Quantificação de leucina e isoleucina	93
2.7.	Desenho Experimental.....	93
2.7.1	<i>Ensaio Biológico</i>	93
2.7.2.	<i>Preparo da dieta</i>	94
2.7.3.	<i>Protocolo de treino</i>	95
2.7.4.	<i>Eutanásia</i>	96
2.8.	Análise do Desempenho físico	96
2.9.	Expressão gênica muscular.....	96
2.10.	Quantificação de proteínas relacionadas a gênese muscular	97
2.11.	Análise Histológica.....	97
2.12.	Análise do estresse oxidativo muscular	98
2.13.	Perfil Bioquímico.....	99
2.14.	Capacidade Antioxidante Total do plasma	99
2.15.	Análise Estatística.....	99
3.	RESULTADOS	101
3.1.	Composição Química da barra alimentícia.....	101
3.2.	Quantificação de leucina e isoleucina.	102
3.3.	Efeito do consumo da barra e do treinamento físico na ingestão alimentar e biometria em Ratos <i>Wistar</i>	103
	Tabela 4. Ingestão alimentar e proteica, coeficiente de eficiência alimentar, proteica e energética dos animais experimentais.	104
3.4.	Desempenho físico e hipertrofia muscular	105
3.4.	Efeito do consumo da barra e do treinamento físico nos marcadores bioquímicos, hepáticos e renais de ratos <i>Wistar</i>	108
3.5.	Estresse oxidativo e capacidade antioxidante total	110
4.	DISCUSSÃO	110
5.	CONCLUSÃO	116
	AGRADECIMENTOS.....	116
	REFERÊNCIAS	117
6.	CONCLUSÕES GERAIS.....	124
7.	ANEXOS	126
	Anexo 1- Aceite Comitê de ética no uso de animais - CEUA	126

1. INTRODUÇÃO

A prática de atividade física regular promove aumento das necessidades nutricionais de indivíduos fisicamente ativos. Nesse contexto, a nutrição se tornou uma aliada quando promove uma alimentação adequada e balanceada, oferecendo macro e micronutrientes que promovem um melhor desempenho do desportista, permitindo que este alcance seus objetivos (Marquezato e Souza, 2017). Modificações na composição e qualidade da dieta, como o tipo apropriado, quantidade e tempo de ingestão de alimentos, líquidos e, ocasionalmente, alguns suplementos e alimentos esportivos, são necessárias para promover a saúde e melhorar o desempenho ideais em diferentes cenários de treinamento e competição (Burke et al., 2019).

O exercício resistido está diretamente ligado ao aumento de força e à hipertrofia muscular. A hipertrofia muscular acontece devido ao aumento da expressão de proteínas associadas às vias anabólicas em detrimento das vias catabólicas, aliadas ao balanço energético favorável (Tipton and Wolfe 2001; Takegaki et al, 2017). Além disso, o exercício resistido realizado com altas cargas é capaz de promover maior ganho de força quando comparado a exercícios de baixa carga (Schoenfeld et al, 2017).

Uma única sessão de exercício resistido pode resultar em desequilíbrio do balanço oxidativo (REDOX) devido à produção aumentada de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROS) (Halliwell e Gutteridge, 2007; Coffey e Hawley, 2007). Por outro lado, a prática regular de exercício permite que o organismo se reestabeleça, ativando o mecanismo de hormeses, a fim de melhorar o desempenho e minimizar a oxidação de moléculas intra e extracelulares por meio do sistema de defesa antioxidante (Coffey e Hawley, 2007; Kawamura e Muraoka, 2018). O sistema de defesa antioxidante é dividido em enzimático e não enzimático, sendo estes capazes de modificar as EROs, pela ação das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) ou pela ação de biomoléculas que atuam no combate e sequestro das EROs (Fanhani e Ferreira; 2006; Cruzat et al, 2007).

A oferta proteica adequada para desportistas pode auxiliar no processo de síntese e degradação proteica promovido pelo exercício. A hiperaminoacidemia no período de recuperação leva estimula a síntese muscular, resultando em hipertrofia muscular (Morton et al, 2018). Em ratos machos praticantes de exercício resistido, a oferta de 20% do VET proveniente da proteína do soro do leite levou ao aumento da síntese proteica quando comparada à do trigo. Os autores atribuíram esse resultado às maiores

concentrações de leucina presentes na proteína do soro do leite (Norton et al., 2009). Em outro estudo, Jager et al. (2017) demonstraram que em indivíduos com consumo calórico diário adequado, a ingestão proteica de 1,6g/kg/dia não proporcionou benefícios adicionais imediatos do consumo de proteína pós-treino.

Diante disso, observa-se a importância da alimentação adequada e balanceada, a fim de fornecer a quantidade calórica e proteica necessária para aumentar a concentração plasmática de proteína após o exercício resistido (Cintineo et al, 2018). Diversos produtos têm sido desenvolvidos para atingir a demanda desse público, como barras com elevado conteúdo proteico (Arseno et al, 2018; Baú et al, 2010), cupcakes proteicos (Ruiz e Poffo, 2016), e suplementos alimentares, como hipercalóricos, carboidratos e suplementos proteicos (Mendes et al, 2012). Neste cenário, as barras alimentícias são produtos de fácil consumo e possuem boa aceitação pelos consumidores em geral (Gutkoski, 2007). Para garantir a ingestão adequada de nutrientes, o consumo de barras alimentícias, em detrimento da ingestão de suplementos alimentares isolados, pois as barras alimentícias apresentam altas concentrações de nutrientes e outros compostos em um produto de pouco volume (Da Costa Freitas et al., 2018).

Embora diversos produtos proteicos venham sendo desenvolvidos, ainda são poucos os estudos que avaliam sua eficiência aliada a qualquer tipo de exercício físico, não tendo sua eficácia completamente conhecida. Na literatura disponível, não estão disponíveis estudos que avaliem o efeito proveniente de barra alimentícia, em especial barras com alto conteúdo de proteínas com matriz alimentar complexa, e seu efeito no consumo alimentar, comportamento metabólico e oxidativo, desempenho físico e hipertrofia muscular de animais ou indivíduos treinados. O uso de diferentes ingredientes no preparo do produto também agrega maior variedade de nutrientes, como vitaminas e minerais, bem como compostos bioativos que podem exercer influência em proteínas e enzimas relacionadas à resposta antioxidante e de vias de sinalização de hipertrofia e atrofia muscular, podendo auxiliar na resposta do organismo após o treino.

Nesse contexto, nosso estudo é inovador pois preenche lacunas existentes na literatura e elucidar de forma associada mecanismos envolvidos com exercício resistido. Isso é possível pois trata-se do desenvolvimento de um produto com matriz alimentar complexa e constituído por ingredientes que fornecem uma quantidade significativa de nutrientes envolvidos direta ou indiretamente no consumo alimentar, equilíbrio metabólico e fatores associado ao desempenho físico e à hipertrofia muscular. A interação

entre os compostos presentes na barra, por ser desconhecida, pode levar a resultados diferentes quando comparada à oferta destes nutrientes de forma isolada. Diante disso, optamos pela realização de um ensaio biológico para elucidar esses mecanismos na resposta do organismo à oferta proteica proveniente da barra, associada ou não ao treinamento com exercício resistido.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, B. D. M., ROSSI, F. E., INOUE, D. S., NETO, J. C. R., & LIRA, F. S. Imunometabolismo e Exercício Físico: Uma nova fronteira do conhecimento. **Motricidade**. v. 13, n. 1, p. 85-98, 2017.
- ARSENO, M., LELIS, V. G., & ZINATO, K. G. Desenvolvimento e avaliação da aceitação de uma nova barra de cereal contendo batata doce e whey protein. **Revista Científica UniScientiae**, v. 1, n. 1, 2018.
- BURKE, L. M. et al. International Association of Athletics Federations Consensus Statement 2019: Nutrition for Athletics. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 29, n. 2, p. 73-84, 2019.
- CINTINEO, H. P., ARENT, M. A., ANTONIO, J., & ARENT, S. M. Effects of Protein Supplementation on Performance and Recovery in Resistance and Endurance Training. **Frontiers in nutrition**, v. 5, 2018.
- COFFEY, V. G.; HAWLEY, J. A. The molecular bases of training adaptation. **Sports medicine**, v. 37, n. 9, p. 737-763, 2007.
- CRUZAT, V. F., ROGERO, M. M., BORGES, M. C., & TIRAPEGUI, J. (2007). Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Rev Bras Med Esporte**. v. 13, n. 5, p. 336-42, 2007.
- DA COSTA FREITAS, I. K. P.; DA COSTA, J. L.; DA COSTA, C. S. H. Suplementação Esportiva: Levantamento dos Suplementos mais Vendidos em Teresina-PI e Avaliação de Composição/Sportive Supplementation: Survey of the Most Sold Supplies in Teresina-PI and Composition Evaluation. **Saúde em Foco**, p. 129-148, 2018.
- FANHANI, A. P. G; FERREIRA, M. P. Agentes antioxidante: seu papel na nutrição e saúde dos atletas. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 1, n. 2, 2006.
- GUTKOSKI, L. C.; BONAMIGO, J. N. A.; TEIXEIRA, D. M. F.; PEDÓ, I. Desenvolvimento de barras de cereais á base de aveia com alto teor de fibra alimentar, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27. p. 355 – 363, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free Radicals in Biology & Medicine, 5th ed.; **Oxford University Press: New York, NY, USA, 2007.**

JAGER R., Kerksick C. M., CAMPBELL B. I., CRIBB P. J., WELLS S. D., SKWIAT T. M. International society of sports nutrition position stand: protein and exercise. **J Int Soc Sports Nutr.** 2017.

KAWAMURA, Takuji; MURAOKA, Isao. Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. **Antioxidants**, v. 7, n. 9, p. 119, 2018.

MENDES, L. B. **Tipos de suplementos mais utilizados por praticantes de musculação, de uma academia da cidade de Criciúma – SC.** Universidade Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.

MONTEIRO R. C. A., RIETHER P. T. A., BURINI R. C. Efeito de um programa misto de intervenção nutricional e exercício físico sobre a composição corporal e os hábitos alimentares de mulheres obesas em climatério. *Revista de Nutrição.* v. 17, n. 4, p. 479-489, 2004.

MORTON R. W., MURPHY K. T., MCKELLAR S. R., SCHOENFELD B.J., HENSELMANS M., HELMS E. A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults. **Br J Sports Med.** 2017.

SCHOENFELD, Brad J.; OGBORN, Dan; KRIEGER, James W. Dose-response relationship between weekly resistance training volume and increases in muscle mass: A systematic review and meta-analysis. **Journal of sports sciences**, v. 35, n. 11, p. 1073-1082, 2017.

TAKEGAKI, Junya; SASE, Kohei; FUJITA, Satoshi. Repeated bouts of resistance exercise attenuate mitogen-activated protein-kinase signal responses in rat skeletal muscle. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 520, n. 1, p. 73-78, 2018.

TIPTON, Kevin D. et al. Timing of amino acid-carbohydrate ingestion alters anabolic response of muscle to resistance exercise. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 281, n. 2, p. E197-E206, 2001.

VIDAL, A. M. et al. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n.15, p. 43-52, 2012.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

1. Avaliar o efeito do consumo de barra alimentícia desenvolvida, caracterizada quimicamente e sensorialmente, de sabor salgado, no desempenho físico, hipertrofia muscular e variáveis metabólicas de ratos *Wistar* submetidos ao exercício resistido.

2.2. Objetivos Específicos

- Desenvolver barra alimentícia de sabor salgado com alto conteúdo de proteína e lipídios;
- Avaliar a aceitação sensorial de consumidores em potencial para esta barra;
- Analisar a composição química centesimal da barra, bem como seu perfil e quantificação de ácidos graxos;
- Analisar o perfil antioxidante e o conteúdo total de fenólicos da barra alimentícia;
- Avaliar o efeito da ingestão da barra alimentícia sobre os indicadores de adiposidade, peso e consumo alimentar em ratos *Wistar* submetidos ao exercício resistido;
- Avaliar os efeitos da ingestão da barra alimentícia no estresse oxidativo em ratos *Wistar* submetidos ao exercício resistido;
- Avaliar o efeito da ingestão da barra alimentícia em marcadores bioquímicos em ratos *Wistar* submetidos ao exercício resistido;
- Avaliar o efeito da oferta proteica proveniente da barra no desempenho físico e hipertrofia muscular em ratos *Wistar* submetidos ao exercício resistido.

3. HIPÓTESE

Objetivo 1: Desenvolvimento, caracterização química e aceitação por consumidores em potencial da barra alimentícia.

H0: A barra desenvolvida não apresentará alto conteúdo de proteínas, compostos fenólicos e antioxidantes, além de um perfil lipídico desejável e baixa aceitação por seus consumidores em potencial.

H1: A barra desenvolvida apresentará alto conteúdo de proteínas, compostos fenólicos e antioxidantes, além de um perfil lipídico desejável e boa aceitação por seus consumidores em potencial.

Objetivo 2: Ensaio biológico

H0: A suplementação proteica da barra rica em proteínas não será capaz de promover alterações em marcadores bioquímicos, estresse oxidativo, desempenho físico e marcadores de hipertrofia muscular em ratos submetidos ao exercício resistido.

H1: A suplementação proteica proveniente da barra rica em proteínas promoverá alterações nos marcadores bioquímicos, melhora o perfil oxidativo, desempenho físico e marcadores de hipertrofia muscular em ratos submetidos ao exercício resistido.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Exercício de força resistido e hipertrofia

Exercício resistido é caracterizado como treinamento contra resistência, comumente realizado com pesos, e os principais benefícios gerados por esse tipo de exercício são o aumento de força e da resistência muscular, bem como desenvolvimento de potência, redução de adiposidade e aumento de massa magra. Esses resultados levam a uma melhor aptidão física e melhora da qualidade de vida. A escolha da musculatura a ser trabalhada, o número de repetições, e a intensidade do exercício, o tempo de descanso e a frequência são fatores que influenciam diretamente nos resultados obtidos com a prática de exercício resistido (Prado et al., 2010). Nesse contexto, a prática do exercício resistido é bastante difundida entre desportistas, os quais buscam rendimento esportivo e melhora estética (Jager et al, 2017).

Entre as alterações musculares ocasionadas pelo exercício resistido, podemos citar o dano muscular induzido pelo exercício (DMIE). O dano muscular consiste em microlesões na estrutura da célula muscular, que afetam a organização estrutural das cadeias de actina e miosina, podendo levar ao desenvolvimento de DMIE, redução da força máxima, limitação da amplitude de movimento e edema muscular. O DMIE também está relacionado com o aumento de proteínas plasmáticas no pós-exercício, como apontado por Philips et al. (2017).

O DMIE é necessário para o alcance da hipertrofia muscular. No entanto, a recuperação adequada é necessária para que o organismo do indivíduo esteja pronto para a próxima sessão de treinos. O dano miofibrilar ocasionado pelo exercício leva a uma liberação descontrolada de cálcio, o que leva a dor muscular tardia e à rigidez, inchaço e dor. Essas alterações estão relacionadas à inflamação e à liberação de cálcio. Aproximadamente 96h após a sessão de treino resistido, há uma substituição de macrófagos do tipo 1 para o tipo 2, estimulando a recuperação e o crescimento muscular (Przybyla et al., 2006).

Phillips et al. (2017) submeteram 4 homens e 4 mulheres jovens ($22,6 \pm 0,6$ anos) moderadamente ativos a uma sessão isolada de exercício resistido concêntrico ou excêntrico e aponta que uma única sessão leva a um aumento da taxa de síntese proteica muscular e das proteínas plasmáticas em até 48h após o exercício, além de aumentar a taxa de degradação muscular.

A hipertrofia muscular acontece devido ao aumento da expressão de proteínas associadas às vias anabólicas, como proteína quinase B (AKT), alvo de mamíferos da rapamicina (mTOR), proteína ribossômica S6 quinase (p70S6K) (Torre-Villalvazo, 2019), em detrimento das vias catabólicas, como glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK-3 β) e complexo de esclerose tuberosa 2 (TSC2) (Weeks, 2017), aliadas a um balanço energético favorável (Tipton e Wolfe 2001; Takegaki, et al., 2017). Além disso, Schoenfeld et al. (2017) demonstram que, em geral, o exercício resistido realizado com altas cargas é capaz de promover um maior ganho de força quando comparado a exercícios de baixa carga. Brigatto et al. (2019) submeteram adultos jovens do sexo masculino a diferentes protocolos semanais (8-16-32 séries/semana) por oito semanas e demonstraram que os indivíduos submetidos a mais sessões de exercício resistido tiveram melhor desempenho do que os demais.

Além disso, diversos estudos vêm demonstrando efeitos protetores à saúde relacionados com o exercício de força resistido, tais como: cardioproteção em indivíduos saudáveis (Smith, 2019) e em camundongos obesos (Boardman et al., 2017), melhora da sensibilidade à insulina em camundongos (Takamura et al., 2017; Zheng e Cai, 2019) e melhora da resposta inflamatória em camundongos (Effting, et al., 2019 ; Luo, et al., 2020).

Tang et al. (2009) demonstraram que a prática de exercício resistido aliada a uma dieta com oferta aumentada de aminoácidos em forma cristalina ou de proteínas inteiras resultou em um sinergismo estimulador da síntese de proteínas, comparada a cada estímulo de forma individual. Esse estímulo à síntese proteica acontece de maneira simultânea à degradação muscular em resposta ao exercício.

4.2. Sinalização de hipertrofia e atrofia muscular

As contrações geradas pelos diferentes tipos de exercício são responsáveis pela modulação da hipertrofia muscular, atuando como um gatilho de sinalização. O exercício resistido leva a uma alteração no fenótipo das fibras musculares, havendo predominância de fibras do tipo II e aumento da área transversal muscular. A hipertrofia muscular envolve estímulo à síntese proteica em detrimento da degradação de proteínas e pode resultar de múltiplos estímulos anabólicos, a principal via de sinalização estudada relacionada à hipertrofia é a via do fator de crescimento semelhante à insulina 1(IGF1)-AKT (Egerman e Glass, 2014).

A sinalização ativada pelo IGF-1 regula positivamente a massa muscular, induzindo a síntese proteica, a jusante da proteína quinase B (AKT) e do alvo de mamíferos da rapamicina (mTOR). O IGF-1 atua por meio do receptor IGF (IGFR) e o substrato 1 do receptor de insulina (IRS1), que fosforila AKT (AKTp). Por sua vez, AKT ativa o complexo 1 mTOR (mTORC1). O mTORC1 controla a síntese de proteínas fosforilando S6 quinase 1 (S6K) e proteína de ligação a eIF4E (4E-BP). O complexo multiproteína mTORC2 inclui o rotor da proteína e contribui para a ativação de AKT. Além disso, os alvos a jusante de AKT incluem o fator de transcrição da glicogênio-sintase-quinase 3β (GSK- 3β). Inibição da GSK- 3β por AKT alivia a inibição do fator de iniciação eIF2B, estimulando a síntese de proteínas (Egerman e Glass, 2014; Weeks et al., 2017).

Em humanos saudáveis e jovens, praticantes de exercício resistido, o fator tempo é determinante na atividade da AKTp, de modo que uma hora após o exercício, a produção de AKTp tem seu ápice, decrescendo em tempos posteriores (3-5h após o exercício) (Rahbek et al., 2014). Este mesmo estudo avaliou a suplementação de proteína do soro de leite associada a carboidratos como intervenção, e demonstrou que embora o resultado se relacione com o tempo pós exercício, a suplementação proteica e a interação tempo x suplementação não exerceram influência na atividade de AKTp em nenhum dos tempos. No entanto, Camera et al. (2014), suplementaram 25g de proteína do soro do leite em homens jovens e saudáveis praticantes de exercício resistido por um ano, e encontrou aumento de 175% para AKTp uma hora após o exercício, quando comparados ao grupo que não recebeu suplementação.

Em camundongos C57BL/6J submetidos a uma única sessão de exercício resistido, a suplementação proteica aumentou os níveis de AKTp em todos os tempos analisados após o exercício (8, 24 e 72h), e no menor o tempo pós-exercício (8h) observaram maiores os níveis de AKTp (Takegaki et al., 2018). O aumento dos níveis de AKTp evidenciou que a suplementação proteica no pós-exercício induziu a hipertrofia muscular. No entanto, ambos os estudos não avaliaram o efeito de animais submetidos ao exercício resistido por período prolongado nos níveis de AKTp.

Ao ofertarem proteína do soro do leite associada ou não a carboidratos imediatamente após o treino resistido em ratos *Sprague-Dawley* adultos jovens submetidos a 10 sessões de exercício resistido em jejum, Wang et al. (2017), observaram que a suplementação induziu a hipertrofia sem diferenças entre fosforilação de AKT ou GSK- 3α e GSK- 3β entre os grupos tratados. Esse resultado sugere que a ativação das vias de hipertrofia não foi regulada pela via de sinalização da insulina. Os autores também

relatam que a fosforilação e a ativação de AKT podem acontecer rapidamente e de forma transitória, de forma que uma hora após o exercício, a fosforilação de AKT pode não ser identificada. Quanto aos níveis de GSK-3 β , os autores apontam que a suplementação nutricional pode estar relacionada a outras vias, não interferindo em seus níveis, de forma que os autores não apontam as possíveis vias de sinalização de hipertrofia muscular envolvidas nos resultados encontrados.

4.3. Estresse oxidativo e exercício físico

O estresse oxidativo está envolvido em condições fisiológicas (como envelhecimento e exercício) e em doenças como câncer, inflamação, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Valko et al, 2007). O estresse oxidativo é definido como o aumento da presença EROS em relação à capacidade de desintoxicação de intermediários reativos ou reparação de danos pela defesa antioxidante. As principais EROS pertencem aos radicais livres, e a condição causada por elas pode alterar a estrutura e a função de proteínas, lipídios, DNA e carboidratos (Valko et al, 2007; Yoshikawa, 2002).

Durante o exercício, ocorre um desequilíbrio do balanço oxidativo (REDOX), devido ao aumento de EROS causado pelo aumento da atividade de vias metabólicas e da maior demanda por oxigênio. Sen (1995) demonstrou que o exercício físico aumentou em até 20x o VO₂, resultando em aumento da biogênese mitocondrial, utilizando 200x mais oxigênio quando comparado ao estado de repouso. A intensidade desse desbalanço no equilíbrio REDOX está envolvida com o nível, duração e intensidade da atividade física, sexo e idade (Valko et al, 2007; Coffey e Hawley, 2007).

O aumento do estresse oxidativo observado no processo de isquemia e reperfusão muscular gerados no exercício se deve, em grande parte, ao catabolismo das purinas. Mais especificamente, durante a isquemia tecidual, há degradação de adenosina-trifosfato (ATP) a adenosina-difosfato (ADP) e monofosfato (AMP), devido ao aumento da demanda energética. Há menor disponibilidade de oxigênio durante o processo isquêmico, com isso a AMP é continuamente degradada a hipoxantina, que é convertida a xantina e, posteriormente, a ácido úrico pela enzima xantina-oxidase, o que justifica o aumento deste no plasma sanguíneo após o exercício (Cruzat et al, 2007).

Proteínas, lipídios e DNA podem ser danificados em consequência ao estresse oxidativo exacerbado, muitas vezes resultando em mudanças estruturais. Os fosfolipídeos

de membrana sofrem peroxidação lipídica, com formação de malondialdeído e outros produtos de decomposição reativos. Estes compostos gerados podem causar alterações em moléculas endógenas, dando origem a epítomos específicos de oxidação, que também estão presentes na superfície de células apoptóticas e bolhas liberadas a partir delas (Weismann et al, 2011).

Após o exercício resistido excêntrico, o rompimento das fibras musculares leva a alterações nas células inflamatórias circulantes. Inicialmente, as células são infiltradas por neutrófilos e, posteriormente, monócitos e linfócitos. Ao infiltrar as células musculares, há a produção de EROS e de enzimas proteolíticas para recuperação do tecido. A infiltração de neutrófilos é estimulada por fatores quimiotáticos, incluindo prostaglandinas, fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-1 β e IL-6 (Cruzat et al, 2007).

O treinamento moderado regular parece benéfico para o controle do estresse oxidativo e para a saúde, pois o organismo se adapta ao aumento da produção de EROs afim de se tornar mais resistente aos danos oxidativos e seus efeitos adversos (Peternej et al., 2011). Essa adaptação acontece por meio da regulação positiva dos antioxidantes e a mudança para um ambiente mais redutor e de maior resistência ao estresse (hormeses) (Powers e Jackson, 2008; Kawamura e Muraoka, 2018).

Padilha et al. (2017) submeteram ratos wistar machos jovens ao exercício resistido de escalada com peso amarrado à cauda por 6 semanas. Ao fim das 6 semanas induziram câncer nos animais e submeteram ao exercício nos 12 dias subsequentes. Os autores demonstraram que o exercício resistido antes e depois da implantação tumoral atenuou o estado inflamatório, o estresse oxidativo muscular, e previniu danos musculares.

Camundongos suíços machos jovens foram submetidos por Effting et al. (2018) ao exercício resistido de escalada com peso amarrado à cauda intervalado a cada 48h, por oito semanas, totalizando 28 sessões. O grupo teste foi alimentado com uma dieta de alto conteúdo de lipídios (59%) para indução de obesidade. Os autores relataram que o exercício reverteu o dano aos lipídios e a produção de espécies reativas, mesmo com o consumo de uma dieta com alto conteúdo de lipídios e mudou positivamente o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), sendo esta responsável pela ativação do processo inflamatório.

Embora espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs) sejam relacionadas a danos biológicos, são essenciais para o funcionamento ideal e para o

desenvolvimento celular. As estruturas celulares utilizam as EROs e ERNs como estímulos biológicos, de modo que estes atuam como mensageiros subcelulares em processos de sinalização molecular, ativando enzimas e genes (Sies et al., 2017). A maioria dos genes de enzimas antioxidantes contém sequências reguladoras em suas regiões promotora e de íntron que podem interagir com fatores de transcrição sensíveis ao redox (Powers, 2016). As espécies reativas também atuam no crescimento e proliferação celular, na biossíntese de moléculas e na resposta imunológica necessárias para vasodilatação e contração muscular ideal (Mittler, 2017).

Vários fatores podem ser considerados na prevenção do aumento excessivo do estresse oxidativo, a fim de melhorar o desempenho, prevenir o envelhecimento e o risco patológico em atletas profissionais. Dentre eles, mecanismos de adaptação e atividades desintoxicantes de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase) associados a mecanismos antioxidantes não enzimáticos, como atividade das vitaminas A, C, E, e de ácido úrico (Vassale et al, 2014).

O malondialdeído (MDA) é um produto da auto-oxidação de ácidos graxos insaturados. Há sugestões de que nas mitocôndrias, nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase, processos dependentes de fosfolipase A2 e xantina oxidase (Powers et al, 2011) podem contribuir para a produção de EROS em humanos, levando ao aumento do dano oxidativo. O malondialdeído e seus produtos de condensação tem sido considerados marcadores confiáveis para o estresse oxidativo. Ele atua também modificando proteínas, que quando alteradas por ação do malondialdeído passam a induzir respostas inflamatórias da via de imunidade inata (Weismann et al, 2011).

A literatura não dispõe de estudos que avaliem a oferta de proteína proveniente de uma barra alimentícia elaborada com diversas matrizes proteicas e outros compostos com potencial atividade antioxidante em marcadores de estresse oxidativo relacionados à prática regular de exercício de força resistido.

4.4. Efeito dos antioxidantes no combate ao estresse oxidativo em resposta ao exercício físico

Os antioxidantes desempenham papéis importantes no retardo ou na prevenção da oxidação de biomoléculas intra e extracelulares (Powers e Jackson, 2008). Os organismos são equipados com sistemas de defesa antioxidante que protegem as células dos efeitos

tóxicos dos radicais livres. Os sistemas antioxidantes de defesa são divididos em antioxidantes enzimáticos, como superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathione peroxidase, e antioxidantes não enzimáticos, como vitamina C, vitamina E, glutathione e bilirrubina (Kawamura e Muraoka, 2018).

Os níveis de antioxidantes (concentração ou atividade) são marcadores importantes do estresse oxidativo e variam de acordo com a função e localização dos tecidos, mas podem aumentar ou diminuir dependendo do grau de exposição ao estresse oxidativo. No entanto, o estado nutricional do indivíduo pode causar alterações nesta medida (Powers e Jackson, 2008).

Goldfarb et al. (2011), avaliaram o efeito da suplementação de cápsulas contendo concentrado de frutas e vegetais como pré-tratamento por 21 dias e pós tratamento de 7 dias na função muscular e resposta ao estresse oxidativo em indivíduos submetidos a ataques agudos de exercício excêntrico. Os autores revelam que os níveis plasmáticos de malondialdeído não aumentaram de forma significativa no grupo suplementado, evidenciando o efeito protetor dos compostos presentes nas frutas e nos vegetais.

Outro composto que apresenta atividade antioxidante no organismo é o ômega 3, e seus efeitos são associados à imunomodulação e propriedades antiinflamatórias e influência no sistema imune. Em relação à manutenção e hipertrofia do músculo, ácidos graxos ω 3 tem demonstrado efeitos positivos no anabolismo e no catabolismo muscular. Esse tipo de ácido graxo apresenta resultados positivos também na recuperação, dano e dor muscular provocados pelo exercício (Boit et al., 2017). A suplementação de ω 3 também tem sido associada à diminuição de marcadores sanguíneos de lesão muscular (músculo esquelético lento troponina I, mioglobina, creatina quinase), e inflamação (TNF- α) (Mickleborough et al., 2015).

Barbeau et al. (2017), submeteram camundongos Zucker machos com seis semanas de idade à corrida durante quatro semanas, e à suplementação de 10% das necessidades energéticas do ácido graxo α -linolênico proveniente da semente de linhaça. Os autores não observaram diferenças na peroxidação lipídica ou expressão de SOD e catalase. Os níveis de proteína carbonilada foram menores no grupo submetido ao exercício, porém não no grupo fisicamente ativo suplementado com ALA.

A *superóxido dismutase (SOD)* é um potente antioxidante que age como enzima de desintoxicação convertendo os radicais de oxigênio produzidos durante o exercício

intenso em peróxido de hidrogênio, um pró-oxidante que pode causar efeitos prejudiciais a várias estruturas celulares (Giimisa, 2003). Estudos tem encontrado níveis aumentados da enzima superóxido dismutase em indivíduos praticantes de exercício, evidenciando a correlação entre o aumento dessa enzima e o exercício vigoroso (Nuhoho, et al 2018; Khassaf et al, 2001).

Tusukiyama e et al (2017), realizaram um estudo com 41 indivíduos adultos submetendo-os à exercício de bicicleta uma hora/dia, 5x/semana por quatro semanas. Ao fim do estudo, os autores observaram aumento do nível de óxido nítrico gerado em resposta ao exercício crônico e que esse aumento pode contribuir para a regulação positiva das oxido nítrico sintase 1 e 3. Além disso, houve aumento da expressão de RNA mensageiro das enzimas antioxidantes catalase, glutathione peroxidase 1 e uma tendência de regulação positiva do exercício físico crônico e a atividade de SOD.

Diaba-Nuhoho et al. (2018), estudaram a resposta antioxidante do organismo ao exercício de resistência praticado por indivíduos jovens de ambos os sexos, com duração mínima de 30 minutos, 3x/semana, durante 6 meses. Os pesquisadores observaram que a prática de exercício físico vigoroso ocasiona um aumento da atividade de SOD, de malondialdeído e de ácido úrico.

4.5. Oferta de macronutrientes e exercício

O tecido muscular é um dos responsáveis pela saúde metabólica dos indivíduos e também é responsável pela locomoção independente. Em repouso, o tecido muscular é o que apresenta maior gasto energético. No exercício, um maior percentual de tecido (massa) muscular também está associado a um melhor desempenho e performance. Além da quantidade de massa muscular, o exercício leva a alterações morfofisiológicas neste tecido, de modo que há hipertrofia e hiperplasia celular (Jager et al., 2017; Stoke et al., 2018).

É elucidado na literatura que mudanças na alimentação e na oferta de nutrientes estão relacionadas a uma melhor resposta do sistema muscular em resposta ao exercício. Essa resposta é dependente também da síntese e do catabolismo de proteínas contráteis, de modo que a síntese deve ser superior ao catabolismo para garantir a hipertrofia. Um dos papéis da alimentação no favorecimento da hipertrofia muscular é o acúmulo de

proteína muscular, a fim de estimular a síntese proteica muscular e gerar um balanço positivo. Bem como a oferta proteica adequada, o exercício de força resistido é responsável por um aumento de até 100% da taxa de síntese muscular. Dessa forma, sessões repetidas de exercícios resistido aliadas à ingestão de proteínas promovem o acúmulo de proteína muscular ao longo do tempo, estimulando a hipertrofia muscular (Jager et al., 2017).

Quanto à oferta proteica, de acordo com o Consenso da Associação Internacional de Federações Atléticas (2019), a recomendação máxima de proteínas para estimular a síntese proteica é de 2,2g/kg/dia e a oferta de 1,6g/kg/dia parece ser o ponto ótimo para estimular essa síntese. Além disso, recomendam uma ingestão diária ideal de proteínas para atletas com objetivo de manutenção ou ganho de peso variando de 1,3 a 1,7g/kg/dia. Os autores afirmam ainda que o consumo superior à recomendação proteica máxima, possivelmente não traz benefício extra na síntese proteica muscular.

Segundo o American College of Sport Medicine (2016) a recomendação de macronutrientes varia entre os indivíduos de acordo com a intensidade. Para praticantes de atividade física de baixa intensidade, a recomendação é de 3-5g/ de carboidratos (CHO)/kg/dia. Para indivíduos praticantes de exercício moderado (mais de uma hora/dia) a recomendação é de 5-7g CHO/kg/dia. Para os praticantes de exercício endurance de 1-3h/dia de intensidade moderada, a recomendação é de 6-10g CHO/kg/dia e para atletas de alta performance (extremo comprometimento – 4-5h/dia) a recomendação é de 8-12g CHO/kg/dia (Thomas et al., 2016).

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa são lipídios considerados essenciais na alimentação e apresentam efeitos benéficos à saúde, incluindo o prevenção e redução de risco de doenças cardiovasculares e diabetes autoimune (Benini, 2017), além de outras funções, como metabolismo de lipídio, perfil anti-inflamatório e efeito sobre a função cognitiva (Calder, 2015). Em praticantes de atividade física regular, Benini (2017) observou a eficácia da suplementação de ácido eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA) na redução do dano muscular causado pelo exercício, na redução do edema muscular e do aumento da creatina quinase sérica e de interleucina-6.

4.5.1. Oferta proteica, exercício resistido e síntese muscular

A proteína obtida na alimentação é absorvida em grande parte no intestino delgado, que utiliza os aminoácidos para produzir energia e para síntese local de proteínas. O restante dos aminoácidos é levado via veia porta para o fígado e tecidos esplâncnicos para serem metabolizados e utilizados para outras finalidades no organismo. Os tipos de aminoácidos ofertados na suplementação proteica também são importantes no processo de hipertrofia, de modo que os aminoácidos de cadeia ramificada são preferencialmente utilizados na recuperação e síntese muscular pós-exercício, como a leucina (Churchward-Venne et al., 2012). Groen et al. (2012), ofertaram 20g de caseína para homens jovens e observaram que apenas 11% dos aminoácidos disponíveis no plasma foram direcionados à síntese muscular.

De acordo com a International Society of Sports Nutrition (2017), para garantir um balanço positivo de proteínas musculares, a ingestão diária total de proteínas deve ser de 1,4 a 2,0 g de proteína/kg de peso corporal /dia é suficiente para a maioria dos indivíduos em exercício, um valor que se alinha na Faixa de Distribuição de Macronutrientes Aceitável, publicada pelo Institute of Medicine (IOM) para proteínas.

Os três aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs), leucina, isoleucina e valina são os principais responsáveis pelo balanço no metabolismo das proteínas musculares (Stoll & Burrin, 2006). Nos tecidos esplâncnicos, enzimas responsáveis pela degradação dos BCAAs são encontradas em baixos níveis e tem sua atividade limitada. Diante disso, os BCAAs ingeridos por meio de alimentos ou suplementos chegam rapidamente à corrente sanguínea, tornando o meio hiperaminoacídico e disponível para os músculos, o que torna esses aminoácidos componentes-chave da síntese proteica muscular.

A International Society of Sports Nutrition (2017) recomenda para atingir a adequação na ingestão de leucina que doses agudas de proteína devem conter entre 700 e 3000 mg desse aminoácido e, ou um teor relativo mais alto de leucina, além de equilíbrio na quantidade de aminoácidos essenciais (EAAs). Uma dose de 20 a 40 g de proteína que contenha entre 10 a 12 g de EAAs, dentre deles 1 a 3 g de leucina, é capaz de estimular a síntese proteica muscular (International Society of Sports Nutrition, 2017). Wilson et al. (2011) demonstraram em modelo animal, que a ingestão de leucina (sozinha ou associada a carboidratos) consumida entre as refeições, prolonga a síntese protéica, aumentando o status energético da fibra muscular (135 min após o consumo).

O exercício pode atuar de duas formas relacionadas à oferta proteica e síntese muscular. O primeiro mecanismo é o de que a prática de exercício resistido em si já estimula a hiperaminoacidemia, o que poderia levar a uma menor demanda proteica para estimular a hipertrofia muscular. No entanto, o exercício resistido também pode aumentar a capacidade de utilização dos aminoácidos, o que levaria a um aumento da demanda de aminoácidos livres para estimular a síntese proteica muscular máxima (Stokes, et al., 2018)

Rahbek et al. (2014), observaram que uma hora após o exercício, a interação tempo e exercício promoveu alterações na glicemia de indivíduos jovens saudáveis praticantes de exercício resistido excêntrico e concêntrico por 12 semanas alimentados com 0,3g/kg/peso de proteína do soro do leite. No entanto, três horas após o fim do exercício, os valores de glicemia entre os grupos suplementados e não suplementados não diferiam.

Oertzen-Hagemann et al. (2019), demonstram em estudo com homens jovens submetidos ao exercício físico resistido por 12 semanas que a suplementação de 15g de aminoácidos provenientes de colágeno hidrolisado foi capaz de aumentar a massa corporal e a massa magra, quando comparado ao grupo controle, alimentado com um placebo não calórico. Além disso, a suplementação proteica a partir destes aminoácidos não interferiu na massa gorda desses indivíduos. Vangsoe et al. (2018), utilizaram suplementação proteica proveniente de insetos por oito semanas em homens jovens, praticantes de atividade física 4x/semana, e revelaram aumento significativo na concentração sanguínea de aminoácidos essenciais (EAA), de cadeia ramificada (BCAA) e de leucina por até 120 minutos para os grupos alimentados com proteína do soro do leite, de soja e de insetos. Os autores afirmam também que a concentração de aminoácidos gerada pela ingestão proteica proveniente da proteína de insetos é semelhante à da proteína de soja e que esta proteína pode ser caracterizada como uma proteína de “digestão lenta”.

Ayoama et al. (2019), observaram que camundongos Kwl:ICR adultos jovens sedentários, alimentados com proteína de soja ou com proteína do soro do leite (17,7%), por duas semanas, apresentaram maior consumo alimentar e o grupo alimentado com caseína apresentou maior razão peso do músculo/peso do animal, sugerindo que a caseína apresentou melhor resultado para hipertrofia muscular. Por outro lado, Waldron et al. (2017), suplementaram aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs) em dose aguda 0,087g/kg, na razão de 2:1:1 para leucina, isoleucina e valina e observaram aumento na

taxa de recuperação da força isométrica, e aumento da altura do salto contra-movimento e a percepção da dor muscular em comparação com o placebo. Assim, a suplementação dos BCAAs de forma isolada (encapsulados, por exemplo) não é necessária, tendo em vista que estes são ofertados em matrizes alimentares completas (Almeida et al., 2016).

Bohé et al. (2008), relatam que o acúmulo de aminoácidos é capaz de induzir a síntese de proteínas musculares após a ingestão proteica retomar aos níveis basais cerca de duas horas após a sessão de exercício. Esse efeito indutor é atribuído aos aminoácidos essenciais presentes na proteína, em especial à leucina, que é o primeiro aminoácido agonista. Norton et al. (2009), submetem ratos machos ao exercício resistido por 5 dias e ofertaram 20% do VET de proteína do soro do leite, e apontou que o grupo alimentado com proteína do soro do leite teve uma maior taxa de síntese proteica quando comparada à do trigo e atribuiu esse resultado às maiores concentrações de leucina presentes na proteína do soro do leite. Embora a leucina seja capaz de induzir a síntese muscular na ausência de outros aminoácidos, outros aminoácidos essenciais devem estar disponíveis para não limitar a síntese proteica muscular (Stokes et al., 2018).

Moore et al. (2015), demonstraram em seu estudo que o acúmulo de aminoácidos no plasma e sua capacidade de indução da síntese muscular atingem um platô, de forma que oferecer um aporte proteico superior não é capaz de maximizar a síntese muscular do que uma dose inferior em homens jovens e adultos. Os autores apontam que uma dose de 0,24g/kg de peso/dia ($\pm 0,06$ g/kg) é capaz de induzir uma resposta máxima para síntese proteica muscular.

Quanto ao horário de oferta das proteínas, ainda há discrepância na literatura. No entanto, estudo realizado por Areta et al. (2013), conclui que para homens jovens praticantes de exercício resistido, a ingestão repetida de 20 g de proteína foi superior para estimular síntese proteica muscular durante o período experimental de 12h, quando comparado a uma dose única de oferta proteica após a sessão de exercício.

Busca-se então avaliar o potencial da substituição de 20% da albumina da dieta de roedores por uma matriz proteica formada por diferentes alimentos, imediatamente após o treino, em marcadores metabólicos, de hipertrofia muscular e de composição corporal em ratos submetidos ao exercício resistido, visto que trata-se de um novo produto e não se encontram disponíveis dados sobre este na literatura.

4.6. Barras alimentícias

Atualmente, as barras alimentícias são amplamente consumidas e aceitas. Elas surgiram há aproximadamente vinte anos e têm apresentado tendência de crescimento de mercado nos últimos anos, principalmente devido ao aumento da preocupação dos consumidores com a saúde, tendo em vista que estas são fonte de nutrientes. As barras estão inseridas no segmento de produtos *snacks*, que tem crescido em média, 2% ao ano em todo o mundo (Nielsen, 2016). A diversidade de ingredientes utilizados na fabricação permite que estas se enquadrem em subsegmentos de mercado específicos, como por exemplo as barras de cereais, de proteína e energéticas (Pereira et al., 2018; Guimarães e Silva, 2009;) e também as barras adicionadas de vitaminas e minerais; com baixo índice glicêmico e barras acrescidas de cálcio (Matsuura, 2005). No processo de comercialização, as alegações nutricionais expostas ao consumidor por meio da embalagem são tidas como informações de saúde, e justificam o potencial das barras alimentícias como uma opção de alimento potencialmente saudável (Pinto, 2017).

A praticidade de consumo das barras alimentícias é um dos principais responsáveis pelo seu crescimento de mercado. Trata-se de um produto de fácil armazenamento e conservação por não necessitar de refrigeração. Além disso, muitas barras alimentícias tem como principal atributo a saudabilidade, o fato de usualmente serem fonte de fibras alimentares e possuir baixo conteúdo de lipídios. Um dos grandes desafios para o desenvolvimento das barras alimentícias é combinar nutrientes como vitaminas, minerais, proteínas e carboidratos, transformando-os em uma mistura saborosa, com textura, aparência e odor que garantam aceitação, em concomitância com o objetivo principal, que é oferecer compostos nutricionais específicos (Marchese e Novello, 2017).

As barras de cereais são produzidas a partir da compactação de cereais, amidos, farinhas e farelos, e também podem conter frutas secas, castanhas, aromas e ingredientes ligantes (Guimarães e Silva, 2009; BRASIL, 2005). Os principais aspectos considerados na elaboração desse produto incluem: a escolha dos cereais, a seleção do carboidrato apropriado para garantir o sabor e uma vida de prateleira adequada, o enriquecimento

com vários alimentos e, ou nutrientes e sua estabilidade no processamento (Matsuura, 2005).

Em geral, as barras com alto conteúdo de proteína consistem de proteínas, gorduras, carboidratos e água, com alguns estabilizantes e inclusão de amendoim e frutas secas (McMahon et al., 2009). De acordo com Hogan et al. (2012), os ingredientes mais utilizados nas barras com alto conteúdo proteico são as proteínas de soja e do soro do leite. Além destes, isolados de proteína vegetal também são utilizados, muitas vezes como misturas com proteínas de soro. As fontes lipídicas mais utilizadas são os vegetais, como manteiga de cacau ou óleo vegetal (McMahon et al., 2009).

Quanto às barras de proteínas disponíveis no mercado, existem irregularidades relativas à declaração da composição destes produtos: a variação da quantidade de nutrientes declaradas no rótulo, quando comparada com a real composição química do alimento, muitas vezes ultrapassa o limite estabelecido pela legislação vigente (20% a mais ou a menos). Diante dessas irregularidades, existe a necessidade de um controle mais rígido das empresas alimentícias quanto aos produtos desenvolvidos e uma fiscalização mais efetiva dos órgãos competentes a fim de garantir a veracidade das informações presentes nos rótulos (Bosquesi, 2016; Brasil, 2003).

Em consequência da sua funcionalidade e por possuir nutrientes, em especial proteínas, que nutrem e promovem a saciedade, a barra alimentícia com alto conteúdo de proteínas (mín. 12g/porção) (BRASIL, 2012) passou a ser bastante consumida por todas as classes populares, principalmente por atletas e pessoas fisicamente ativas, que visam melhorar o metabolismo e alcançar resultados satisfatórios de forma mais rápida aliando os exercícios físicos à nutrição (Bosquesi et al., 2016).

4.6.1. Ingredientes utilizados em barras alimentícias para desportistas

Os principais ingredientes que constituem a barra proteica que será investigada neste estudo são: o amendoim, a soja, a proteína do soro de leite, o azeite de oliva e a chia. Não existem estudos até o momento que investigaram a interação destes nutrientes em conjunto por meio da produção de uma barra alimentícia constituída principalmente de proteína e de lipídios ou de qualquer outro alimento em praticantes de exercício resistido. No entanto, as propriedades nutricionais destes alimentos e estudos que

investigaram seus efeitos em práticas de atividade física em animais e humanos serão relatadas a seguir.

O amendoim é muito utilizado pela indústria alimentícia, devido ao sabor, à boa digestibilidade, e à composição nutricional, pois é um alimento com bom conteúdo proteico, lipídico e calórico (585 cal.100 g⁻¹), com quantidade representativa de vitamina E, vitamina B1, ácido fólico, potássio, fósforo e zinco (PINTO, 2017). Além desses compostos, o amendoim contém tocoferol, que atua como antioxidante. Existem diversas formas de tocoferol, e as presentes no amendoim são α , β , δ e γ . A forma α possui maior atividade de vitamina E, embora exista predominantemente nessa oleaginosa a forma γ (Lozano, 2016). A vitamina E é responsável pela proteção contra danos musculares após o treinamento e pela melhora do $VO_{2m\acute{a}x}$. O zinco se relaciona à estabilização da membrana, síntese proteica, estoque e produção de insulina (Chou et al., 2018).

Os grãos de soja são constituídos de 30 a 45% de proteínas, entre 15 e 25% de lipídios (que incluem os ácidos graxos essenciais), cerca de 20 a 35% de carboidratos e 5% de cinzas (Moreira, et al., 2016). O perfil de aminoácidos da soja é formado por histidina, isoleucina, leucina, lisina (elevado conteúdo), metionina, cistina, fenilalanina, tirosina, treonina, triptofano e valina, sendo limitada apenas em aminoácidos sulfurados (Santos, 2010). Aminoácidos de cadeia ramificada, como leucina e isoleucina (BCAA's), possibilitam reduções no nível de dor e danos a nível muscular causados pelo exercício (Ra et al., 2013). Em razão do perfil de aminoácidos da soja, estudos investigam sua qualidade proteica (Da Silva et al., 2010) e os efeitos da suplementação proteica proveniente da soja em comparação a outras matrizes alimentares.

A soja contém também isoflavonas, que associadas à sua qualidade proteica, qualificam este alimento como funcional, tendo em vista os efeitos positivos à saúde quando consumido. As isoflavonas possuem em sua estrutura compostos que a permitem exercer um efeito antioxidante. Os grãos de soja apresentam peptídeos bioativos formados por aminoácidos como tirosina, metionina, histidina, lisina e triptofano, que também conferem propriedades antioxidantes à leguminosa (Moreira, et al., 2016).

A soja também possui peptídeos que exercem diversas atividades biológicas, como: atividade hipolipidêmica, anti-diabética, anti-hipertensiva, anticâncer, antioxidante, anti-inflamatória, e propriedades imunoestimuladoras e neuromodulatórias (Chatterjee et al., 2018).

A semente de chia apresenta em média 18,9% de proteína e é considerada a mais rica fonte botânica conhecida de ácido α -linolênico ômega-3 (C18: 3, ALA, até 68%) e tem sido apontada como importante fonte de proteína, fibra alimentar, minerais e compostos bioativos (da Silva et al., 2017). Segundo Enes et al. (2020), o potencial bioativo da semente de chia associado ao seu consumo diário, exerce papel protetor no desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, principalmente devido aos efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, hipoglicêmicos e hipolipidêmicos da semente.

Entre os compostos bioativos da chia, os peptídeos exercem papel antioxidante, e promovem a redução de marcadores inflamatórios em macrófagos *in vitro*, como o fator nuclear kappa β (NF- κ B) e óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (Grancieri et al., 2019a; Grancieri, et al., 2019b). Seu potencial antioxidante também está relacionado ao conteúdo de tocoferóis, fitosteróis, carotenóides e compostos fenólicos, que têm o potencial de proteger o organismo contra diversas doenças e também promover efeitos benéficos na saúde humana (Marineli et al., 2014; Grancieri, et al., 2019a). A ingestão de chia induz a expressão de proteína de choque térmico e restaura a expressão de SOD e GPx no músculo esquelético, confirmando seu papel antioxidante (Marineli et al., 2015). A semente também apresenta alta concentração de vitamina E (sendo o γ -tocoferol o principal componente encontrado), flavonas e flavanonas (da Silva et al., 2017; Enes et al., 2020).

O azeite de oliva é constituído principalmente por lipídios. Porém, apresenta outros componentes em quantidade reduzida, que constituem as frações solúvel e a insaponificável. A fração solúvel é composta por mais de 30 tipos de polifenóis e flavonoides e na fração insaponificável, tocoferóis, álcoois graxos e triterpênicos (Lopes, et al., 2016). Quanto ao perfil de lipídios do azeite de oliva, este se caracteriza como excelente fonte de ácidos graxos mono e poliinsaturados, como o ômega 3, ômega 6 e ômega 9. Tem sido demonstrado que o ácido graxo poli-insaturado ômega 3 atua como antioxidante e modulador do sistema imune, potencializando a resposta do organismo à prática de exercício resistido (musculação) (Pessoa et al., 2018).

No estudo de Reidy et al. (2017), o consumo de proteína do soro de leite (22g/dia) e uma mistura proteica composta de 25% de isolado proteico de soja, 25% proteína do soro de leite e 50% de caseinato de sódio por 12 semanas de exercício resistido, 3x/semana em dias não consecutivos em homens jovens promoveram hipertrofia muscular e da área transversal específica das miofibrilas do vasto lateral. A oferta proteica não aumentou os resultados alcançados pelo exercício nas miofibrilas, células satélites ou

adição mionuclear em homens jovens. Nesse contexto, a oferta proteica pode não ter sido suficiente para promover alterações miofibrilares.

Para Burd et al. (2015), o consumo pós-treino de 30g de proteína proveniente da carne, durante um ano, em homens jovens praticantes de exercício de força resistido, acelerou o aumento na concentração de aminoácidos plasmáticos quando comparado a indivíduos que receberam a mesma quantidade de proteínas do leite desnatado. Ambas as proteínas foram capazes de aumentar a fosforilação do alvo de mamíferos da rapamicina (mTOR1) e proteína ribossômica S6 quinase beta-1 p70S6K no pós-exercício, evidenciando a ativação das vias de hipertrofia muscular.

A oferta de proteína do soro do leite (20g imediatamente após o treino e 20g duas horas após o treino), em 22 indivíduos jovens praticantes de exercício de resistência estimulou as vias de hipertrofia muscular por meio do aumento das concentrações séricas de leucina e maior fosforilação da proteína p70S6K. Esse consumo proteico também levou ao aumento da taxa de síntese proteica muscular em até 5h após o exercício, quando comparado ao leite (Hamarsland et al., 2017).

De acordo com Poullos et al. (2018), a suplementação com proteína do leite, em 1,15 g/kg em dias de jogo e 0,26g/kg em dias de treinamento com jogadores de futebol não resultou em mudanças na corrida de alta intensidade quando comparado ao grupo placebo. Quanto à resposta ao estresse oxidativo, os autores apontam que a proteína carbonilada e o ácido tiobarbitúrico tem um aumento de vida mais curto no grupo suplementado com proteína, quando comparado ao placebo.

4.6.2. Barras alimentícias com alto conteúdo de proteínas e seus efeitos metabólicos

O mercado das barras alimentícias com elevado conteúdo de proteína se encontra em ascensão e o principal motivo é o aumento dos consumidores em potencial para lanches que ofereçam uma quantidade significativa de proteínas (Franco, 2015). Devido a esse crescimento, vêm sendo desenvolvidas novas formulações para atender a essa demanda dos consumidores. Nesse sentido, diversos estudos vêm sendo conduzidos avaliando o efeito da oferta de barras com alto conteúdo de proteínas, sendo estas provenientes de diferentes fontes alimentares, como a proteína do soro do leite e a

proteína da soja, perante diversas situações, como o exercício resistido e resistência à insulina.

Grubic et al. (2019) compararam os efeitos da ingestão de uma barra alimentícia contendo 20g proteína de soro de leite e 25g de carboidratos, incluindo as fibras alimentares com a ingestão de 25g de gel de dextrose no desempenho e recuperação do exercício resistido agudo e o condicionamento em homens eutróficos, jovens treinados. A oferta dos macronutrientes aconteceu dentro da estratégia nutricional comumente utilizada para desportistas. Os autores revelaram que a ingestão da barra alimentícia antes, durante e após intenso exercício resistido e condicionamento de *sprint* mantiveram a glicemia e aumentaram a insulina em maior grau quando comparada à dextrose.

Os autores demonstram também que embora não tenham sido observados efeitos significativos nas variáveis de desempenho, houve alguma evidência na análise de alterações médias da linha de base com IC de 95% de que a ingestão da barra ajudou a manter a resistência e o desempenho do exercício de *sprint*, sem alterações nos marcadores de catabolismo e de inflamação. Além disso, Grubic et al. (2019) demonstram que o consumo dessa barra pode servir como uma boa opção de alimento com baixo índice glicêmico para os indivíduos tomarem antes, durante e/ou após exercícios intensos, bem como pode ser uma boa opção de alimentos com baixo índice glicêmico para populações pré-diabéticas e diabéticas.

Faria et al. (2015) substituíram, respectivamente, 25, 50 e 75% da proteína do soro do leite presente em barras alimentícias proteicas por proteína de soja isolada e avaliaram o efeito da oferta das barras modificadas na resistência à insulina de ratas *Wistar* diabéticas. Eles ofertaram a barra às ratas por quatro semanas. A forma de administração adotada foi o preparo de uma alimentação contendo 20% da formulação adaptada e 80% de dieta padrão para roedores. As barras alimentares utilizadas no estudo continham entre 30 e 36% de proteína e quanto à fibra alimentar total, as formulações apresentaram entre 22 e 27%.

Quanto à aceitação sensorial, de acordo com a escala hedônica de nove pontos, as barras apresentaram aceitação entre 6 e 8, o que vai de gostei ligeiramente a gostei extremamente. Segundo Faria et al. (2015), a oferta de barras proteicas contendo proteína de soja isolada e isoflavonas de soja capaz de atenuar ou prevenir distúrbios do metabolismo da glicose em modelo animal.

El-Shobaki et al. (2018) recrutaram homens entre 19 e 25 anos adaptados ao exercício resistido para receberem a suplementação proteica proveniente de barra alimentícia preparada com proteína do soro do leite isolado. Cada barra alimentícia continha 26g de proteína. Os indivíduos recebiam a suplementação 4x/semana durante 4 meses. Os autores também realizaram a análise do perfil de ácidos graxos e identificaram que os principais ácidos graxos poliinsaturados presentes na barra são o ácido oleico (38,1%) e o ácido linoleico (28,1%), e entre os ácidos graxos saturados são o ácido esteárico (7,1%) e o ácido behênico (6,6%). Os autores demonstram também que a barra de proteína de soro de leite formulada e utilizada pelos atletas após o treinamento de resistência melhorou a composição corporal. Também relatam que as barras de proteína de soro de leite não têm efeito prejudicial a funções hepáticas ou renais e recomendam que seu consumo seja realizado após o exercício para que os atletas possam ter seus benefícios máximos.

Embora estudos já venham sendo conduzidos analisando os efeitos metabólicos de barras com alto conteúdo de proteínas, não se encontram disponíveis na literatura estudos que avaliem o efeito de uma barra alimentícia que combine proteínas (proteína do soro do leite isolada, proteína da soja, albumina) em indivíduos ou animais submetidos aos exercício de força de resistido por um período prolongado.

4.7. Consumo de macronutrientes e apetite

4.7.1. Consumo de proteína e saciedade

A ingestão proteica aumentada é apontada como fator associado ao aumento da saciedade, sendo adotada para evitar o consumo de alimentos com alto conteúdo de açúcares e, ou gordura, além da quantidade de alimentos ingerida (Bensaid et al., 2002). Du et al. (2017) observaram que esse efeito foi mais eficaz no café da manhã do que nas demais refeições.

Monteyne et al. (2016) ofereceram proteína do soro do leite (*whey protein*) (0,3g/kg/peso) para homens jovens praticantes de exercício de força resistido imediatamente após o treino e observaram que seu consumo reduziu o gasto energético em comparação ao grupo que recebeu dextrose. Os autores também aplicaram um questionário subjetivo para avaliar a saciedade, porém não encontraram diferença entre os grupos.

Além disso, a matriz de aminoácidos que compõe a proteína também tem relação com o efeito que esta exerce sobre a saciedade. Alimentos que oferecem as proteínas de alto valor biológico, ou seja, compostas por todos os aminoácidos essenciais, podem exercer maior saciedade do que alimentos compostos por proteínas de menor qualidade (Westerterp-Plantenga et al., 2012).

Nesse contexto, Hall et al. (2003) ofertaram 48g de proteínas do soro de leite e da caseína por 7 dias em adultos jovens e eutróficos de ambos os sexos, e observaram que o soro de leite foi mais sacietogêna quando comparado à caseína. Ao avaliarem os níveis plasmáticos de peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), colecistoquinina (CCK) e o peptídeo inibidor gástrico (GIP), observaram níveis plasmáticos mais altos no grupo suplementado com proteínas do soro do leite. Quando comparada com a proteínas de soja e com a albumina, a proteína do soro do leite também foi considerada mais efetiva (Veldhorst et al., 2008).

A sensação de saciedade causada por uma dieta com alto conteúdo de proteínas está associada ao aumento do consumo energético, que gera uma demanda maior de oxigênio e aumento da temperatura corporal durante o processo digestivo (Westerterp-Plantenga et al., 2012). Além disso, Mellinkoff et al. (1956) observaram que a concentração elevada de aminoácidos não utilizados para a síntese proteica no plasma sanguíneo é também um regulador de saciedade, diminuindo a ingestão de alimentos.

A suplementação de 15% de proteínas levou ao aumento da secreção de hormônios anorexigênicos, como GLP-1, CCK e o peptídeo PYY e à redução da secreção de hormônios orexigênicos, como a grelina em indivíduos de adultos de ambos os sexos (Smeets et al, 2008). No entanto, ao se ofertar 25% e 10% de caseína, proteína do soro do leite ou proteína de soja, Veldhorst et al. (2007) observaram que o aumento da saciedade não se relacionou com GLP-1, PYY e CCK, e que a caseína e a proteína de soja conferiram maior saciedade. Ao oferecer 25% de proteína do soro do leite, houve aumento de GLP-1 e de insulina plasmáticos, concomitante à redução dos valores de grelina. Porém, ao avaliarem saciedade, os indivíduos que receberam menor percentual apresentaram maior sensação de saciedade.

4.7.2. Lipídios e saciedade

A dieta ocidental fornece entre 80 e 100g de lipídios diariamente. Os principais ácidos graxos ingeridos neste tipo de dieta são os ácidos graxos de cadeia longa. Após a

ingestão, os ácidos graxos são degradados em ácidos livres e monoacilgliceróis principalmente no intestino delgado. No lúmen intestinal, os ácidos graxos livres se incorporam em micelas e adentram os enterócitos por difusão simples. No interior dos enterócitos os ácidos graxos são redirecionados para a síntese de triglicerídeos e outros derivados (Witkamp et al., 2018). Este estudo vem para ofertar quantidades significativas de ácido oleico, linoleico e também ácido linolênico e investigar seus efeitos em conjunto sobre a sensação de saciedade em ratos *Wistar* por meio da investigação do consumo alimentar total e consumo alimentar de uma barra alimentícia salgada rica em proteínas.

Os dados disponíveis na literatura têm apontado a quantidade e os tipos de gordura consumidos na alimentação são capazes de modular a liberação de peptídeos gastrointestinais relacionados à saciedade: PYY, GLP-1, CCK e grelina (GRE). Uma refeição rica em lipídios está relacionada com o aumento da liberação de peptídeos gastrointestinais, com aumento da atividade observado após o consumo de uma refeição contendo ácidos graxos de cadeia longa, em comparação com ácidos graxos de cadeia curta e média (Sun et al., 2019; Witkamp et al., 2019).

Os ácidos graxos mono e poli-insaturados, bem como os ácidos graxos saturados são os principais ácidos graxos presentes nos óleos de cozinha. O $\omega 6$ é o principal ácido graxo poliinsaturado presente na dieta ocidental, enquanto o ácido palmítico é amplamente utilizado em várias aplicações alimentares em todo o mundo.

Chang et al. (2016) submetem 15 homens e 15 mulheres acometidos de síndrome metabólica ao consumo de uma dieta com alto conteúdo de lipídios (*high fat*) enriquecida com ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou ácido graxo poliinsaturado linoleico. Os participantes receberam um copo de *milk shake* sabor morango contendo 50,9 g de lipídios. Os autores identificaram que seis horas após a ingestão do *shake*, o grupo alimentado com alto conteúdo de lipídios enriquecida com ácidos graxos saturados levou a um aumento do peptídeo inibidor gástrico (GIP). Os autores demonstram que a quantidade e os tipos de ácidos graxos afetaram agudamente a liberação do peptídeo gastrointestinal em portadores de síndrome metabólica, porém não afetaram a saciedade.

Por outro lado, Sun et al. (2019) analisaram os efeitos de dietas com alto conteúdo de ácidos graxos mono (MUFA) ou poli-insaturados (PUFA) em 13 homens chineses saudáveis. Os autores ofereceram refeições isocalóricas à base de arroz contendo 40g de gordura, provenientes de azeite de oliva (fonte de ácidos graxos monoinsaturados) e de óleo de semente de uva (fonte de ácidos graxos poliinsaturados). Os autores demonstraram neste estudo que a oferta de MUFA apresentou uma redução na grelina 30

e 60 minutos após a ingestão. No entanto, aos 120 minutos, a área abaixo da curva para grelina foi superior no grupo PUFA. A concentração de GIP nos tempos 20 e 120 minutos após a ingestão foi superior no grupo MUFA. Não foram encontradas diferenças entre os grupos para GLP-1.

Polley et al. (2018) ofereceram dietas contendo 50% de lipídios monoinsaturados ou poli-insaturados para 15 homens adultos jovens sedentários por cinco dias. A dieta rica em lipídios com ácidos graxos poli-insaturados resultou em uma menor sensação de fome. No entanto, o consumo energético, as classificações de plenitude e o PYY não diferiram entre as dietas antes e após intervenção.

Nesse contexto, Kaviani et al. (2017), considerando dados hormonais e de saciedade, relatam que os PUFAs aumentam a resposta de PYY, os MUFAs levam a uma resposta mais forte de GLP-1 e GIP. Hormônios como CCK, grelina, leptina, insulina não se alteram com PUFAs ou MUFAs.

4.8. Lipídios e efeitos benéficos à saúde associados à prática de atividade física

Os suplementos lipídicos tem se destacado entre os atletas de alto rendimento devido à sua capacidade de auxiliar na perda de peso, melhorar o perfil de lipídio e o desempenho físico, além de melhorar o metabolismo de gordura e ampliar a síntese de testosterona e reposição dos estoques de glicogênio (Macaluso et al., 2013). Entre os lipídios utilizados na suplementação desses atletas, o ácido linoleico conjugado (CLA) tem exercido um papel de destaque.

4.8.1. Ácido Linolênico (ω 3)

A prática de exercício físico regular, assim como a ingestão de ω 3, leva ao aumento da oxidação de ácidos graxos. Além disso, o consumo de ácidos graxos ω 3 aumenta a produção de enzimas antioxidantes como a catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase. Também estão associados ao aumento da sensibilidade à insulina e a prevenção de hiperglicemia (Simopoulos, 2008).

Os ácidos graxos poliinsaturados funcionam como antioxidantes principalmente para evitar a peroxidação dos lipídios de membranas, pois as moléculas de lipídios que apresentam mais duplas ligações são mais susceptíveis à interação com EROs. Ácidos graxos poliinsaturados ω 3, como o ácido eicosapentanoico (EPA) e o ácido docosahexanoico (DHA) apresentam cinco e seis duplas ligações respectivamente, e com isso

são substratos mais suscetíveis ao ataque dos radicais livres, minimizando o ataque destes a lipídios de membrana e a outros sistemas biológicos (Campos et al., 2015).

No entanto, Bloomer et al. (2009) suplementaram 2224mg de EPA + 2208mg de DHA por seis meses em homens jovens treinados, e essa suplementação não exerceu efeitos na capacidade antioxidante, LDL oxidada, malondialdeído, razão nitrato/nitrito e atividade da xantina oxidase desses indivíduos, embora a concentração plasmática de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) tenha reduzido em resposta ao exercício.

Estudos vêm sendo conduzidos para investigar o efeito do consumo do ácido graxo ω 3 em co-morbidades, como esteatose hepática e doenças cardiovasculares (Miotto et al., 2017; Barbeau et al., 2017). Meital et al. (2019) investigaram o efeito do consumo de ômega 3 em células de homens portadores de aneurisma da aorta abdominal e observaram que a suplementação foi capaz de reduzir a concentração de fator de necrose tumoral α (TNF α) e interleucina 6. Além disso, o DHA também aumentou a atividade da glutathione peroxidase.

O estudo de McAnulty et al. (2010) demonstrou que os níveis de EPA e DHA plasmáticos aumentaram nos grupos suplementados com ω 3. A capacidade de absorção de radicais livres reduziu em 48 ciclistas jovens treinados ativos 3x/semana, durante 6 semanas, nos grupos suplementados com ômega 3 (2000 mg de EPA + 400mg de DHA), complexo vitamínico mineral, combinação de ômega 3 e complexo vitamínico e placebo. A depleção de um ou mais antioxidantes não foram afetados pela suplementação.

4.8.2. Ácido Linoleico (ω 6)

O ácido linoleico, também conhecido como ω 6, é o principal ácido graxo poliinsaturado consumido nas dietas ocidentais. O ω 6 é considerado um ácido graxo essencial pois humanos não são capazes de sintetizá-los. As principais fontes de ω 6 são os óleos vegetais, as oleaginosas, sementes e alimentos industrializados preparados com óleos vegetais (Innes et al., 2018; Blasbalg et al., 2011).

Esse ácido graxo (AL) é componente estrutural de membranas celulares e precursor de diversos eicosanoides envolvidos nos processos fisiológicos, como o ácido araquidônico (Delplanque et al., 2015). No entanto, o ácido araquidônico exerce atividades pró-inflamatórias na cascata de inflamação, ao se converter em prostaglandinas e, ou leucotrienos (Tortosa-Caparrós et al., 2016).

Além de exercer esses papéis no organismo, desde meados da década de 90, uma isoforma do ácido linoleico, o Ácido Linoleico Conjugado (CLA) tem sido apontado como potencializador no controle do peso corporal. Mika et al. (2019) demonstraram que em camundongos BALB/c saudáveis praticantes de exercício de força resistido, o consumo de 35 µl de CLA por seis semanas aumentou o conteúdo de ácidos graxos de cadeia ramificada e de ácidos graxos w6 hepáticos.

Em relação ao exercício aeróbico (*endurance*), Barone et al. (2016) submeteram camundongos sedentários e corredores a seis semanas de suplementação com 0,7g/kg/dia de CLA e verificaram que o exercício de *endurance* estimula a biogênese mitocondrial por meio das isoformas de receptor ativado por proliferador de peroxissomo co-ativador gama 1-alfa (PGC1 α), porém a suplementação com CLA não estimula a biogênese mitocondrial e as isoformas de PGC1 α . No entanto, induz a hipertrofia das fibras musculares do tipo IIX e aumento dos capilares sanguíneos.

4.8.3. Ácido Oleico (ω 9)

O Ácido oleico, também conhecido como ômega 9, é um ácido graxo mono-insaturado e é o principal ácido graxo que compõe o perfil lipídico do azeite de oliva, do amendoim e da soja (TACO, 2012).

Os ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs) tem exercido papel na proteção cardiovascular e outras doenças, tais como diabetes e esteatose hepática não alcoólica. Diferente dos ácidos ômega 3 e ômega 6, o ômega 9 não é um ácido graxo essencial, sendo o organismo humano capaz de sintetizá-lo.

O ω 9 é o principal ácido graxo consumido na dieta mediterrânea, conhecida por seu papel protetor na saúde cardiovascular, potencial anticancerígeno. O ω 9 é também o principal ácido graxo presente nas paredes de membranas celulares, promovendo saudabilidade e melhor qualidade de vida (Asif, 2011). Nesse contexto, Chen et al. (2018) verificaram que o ácido oleico exerceu papel protetor frente aos ácidos graxos saturados que induzem lipotoxicidade nas células, em especial nos hepatócitos.

REFERÊNCIAS:

ALMEIDA, C. C. et al. Protein and amino acid profiles of different whey protein supplements. **Journal of dietary supplements**, v. 13, n. 3, p. 313-323, 2016.

AOYAMA, S., HIROOKA, R., SHIMODA, T., & SHIBATA, S. Effect of different sources of dietary protein on muscle hypertrophy in functionally overloaded mice. **Biochemistry and biophysics reports**, v. 20, p, 100-686. 2019.

ARETA, J. L. et al. Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters myofibrillar protein synthesis. **The Journal of physiology**, v. 591, n. 9, p. 2319-2331. 2013.

ASIF, M. Health effects of omega-3, 6, 9 fatty acids: Perilla frutescens is a good example of plant oils. **Oriental Pharmacy & Experimental Medicine**, v. 11, n. 1, p. 51-59, 2011.

BADIMON, L., et al. Diet and cardiovascular disease: effects of foods and nutrients in classical and emerging cardiovascular risk factors. **Current medicinal chemistry**, v. 26, n. 19, p. 3639-3651, 2019.

BARBEAU, P. A. et al. α -Linolenic acid and exercise training independently, and additively, decrease blood pressure and prevent diastolic dysfunction in obese Zucker rats. **The Journal of physiology**, v. 595, n. 13, p. 4351-4364, 2017.

BARONE, R. et al. Effects of Conjugated Linoleic Acid Associated With Endurance Exercise on Muscle Fibres and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Coactivator 1 α Isoforms. **Journal of cellular physiology**, v. 232, n. 5, p. 1086-1094, 2017.

BENINI, D. **Efeitos da suplementação de ômega 3 e whey protein sobre os marcadores indiretos de dano muscular induzido por exercício excêntrico**. Tese de Doutorado. Universidade Federal De Ciências Da Saúde De Porto Alegre – UFCSPA. 2017.

BENSAID, A., et al. Protein is more potent than carbohydrate for reducing appetite in rats. **Physiol Behav** v. 75, p. 577–582. 2002.

BLASBALG, T. L. et al. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century. **The American journal of clinical nutrition**, v. 93, n. 5, p. 950-962, 2011.

BLOOMER, R. J. et al. Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on resting and exercise-induced inflammatory and oxidative stress biomarkers: a randomized, placebo controlled, cross-over study. **Lipids in health and disease**, v. 8, n. 1, p. 36, 2009.

BOARDMAN, N. T., et al, E. Exercise of obese mice induces cardioprotection and oxygen sparing in hearts exposed to high-fat load. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 313. n. 5. p. 1054-1062. 2017.

BOHÉ, J. et al. Rapid report: Latency and duration of stimulation of human muscle protein synthesis during continuous infusion of amino acids. **The Journal of physiology**, v. 532, n. 2, p. 575-579. 2001.

BOSQUESI, R. M.; CAMISA, J.; SANTOS, F. C. Avaliação dos teores de proteínas e lipídios em barras protéicas. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 10. n. 55. p.24-30, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 222, de 24 de março de 1998. RDC Nº 18. Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 27 abr. 2010. Disponível em: <
http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_18_2010_COMP.pdf/1f6e1baf-fd83-4408-8e97-07578fe3db18 >. Acesso em: 27 set. 2018

BRASIL. Ministério da Saúde: – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Resolução RDC nº 263. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF. 22 set. 2005 Disponível em:
<<https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjIwMw%2C%2C> >. Acesso em: 28 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde: – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados.

Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 dez. 2003. Disponível em: <

http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc>. Acesso em: 27 de set. 2018.

BREEN, L., & PHILLIPS, S. M. Skeletal muscle protein metabolism in the elderly: Interventions to counteract the 'anabolic resistance' of ageing. *Nutrition & Metabolism*, v. 8, p. 68. 2011.

BRIGATTO, F. A. et al. High Resistance-Training Volume Enhances Muscle Thickness in Resistance-Trained Men. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, 2020.

BURD, N. et al. Differences in postprandial protein handling after beef vs. milk ingestion during postexercise recovery: a randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 102, n. 4, p. 828-836, 2015.

BURKE, L. M. et al. International Association of Athletics Federations Consensus Statement 2019: Nutrition for Athletics. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 29, n. 2, p. 73-84. 2019.

CALDER, P. C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: effects, mechanisms and clinical relevance. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1851, n. 4, p. 469-484, 2015.

CAMERA, D. M. et al. Protein ingestion increases myofibrillar protein synthesis after concurrent exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 47, n. 1, p. 82-91, 2015.

CAMPOS, S. C., et al. Influência da Suplementação com Ácidos Graxos n-3 no Desenvolvimento do Estresse Oxidativo em Camundongos. **Journal of Health Sciences**, v. 13, n. 4, 2015.

CHANG, C., et al. The amount and types of fatty acids acutely affect insulin, glycemic and gastrointestinal peptide responses but not satiety in metabolic syndrome subjects. *European Journal of Nutrition*. v. 57, n. 1, p. 179-190, 2018.

CHATTERJEE, I. B. Evolution and the Biosynthesis of Ascorbic Acid. **Science**, v. 182. p. 1271–1272. 1973.

- CHEN, X. et al. Oleic acid protects saturated fatty acid mediated lipotoxicity in hepatocytes and rat of non-alcoholic steatohepatitis. **Life sciences**, v. 203, p. 291-304, 2018.
- CHOU, C. C., et al. Short-Term High-Dose Vitamin C and E Supplementation Attenuates Muscle Damage and Inflammatory Responses to Repeated Taekwondo Competitions: A Randomized Placebo-Controlled Trial. **International Journal of Medical Sciences**, v. 15. n.11. p. 1217–1226. 2018.
- CHURCHWARD-VENNE, T. A., et al. Nutritional regulation of muscle protein synthesis with resistance exercise: strategies to enhance anabolism. **Nutrition & metabolism**, v. 9, n. 1, p. 40. 2012.
- CHURCHWARD-VENNE, T.A., et al. Supplementation of a suboptimal protein dose with leucine or essential amino acids: effects on myofibrillar protein synthesis at rest and following resistance exercise in men. *J. Physiol.* v.590. p.:2751-2765. 2012.
- COFFEY, V. G.; HAWLEY, J. A. The molecular bases of training adaptation. **Sports medicine**, v. 37, n. 9, p. 737-763, 2007.
- CÓRDOVA, A.; NAVAS, F. J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, n. 5, p. 204-208, 2000.
- CRUZAT, V. F. et al. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Rev Bras Med Esporte.** v. 13, n. 5, p. 336-42, 2007
- DA BOIT, M. et al. Sex differences in the effect of fish-oil supplementation on the adaptive response to resistance exercise training in older people: a randomized controlled trial. **The American journal of clinical nutrition**, v. 105, n. 1, p. 151-158, 2017.
- DA COSTA FREITAS, I. K. P.; DA COSTA, J. L.; DA COSTA, C. L.S. Suplementação Esportiva: Levantamento dos Suplementos mais Vendidos em Teresina-PI e Avaliação de Composição/Sportive Supplementation: Survey of the Most Sold Supplies in Teresina-PI and Composition Evaluation. **Saúde em Foco**, p. 129-148, 2018.

DA SILVA, B. P., et al. Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. **Food chemistry**, v. 221, p. 1709-1716, 2017.

DA SILVA, C. O., et al. Influence of processing on the protein quality of new soybean cultivars intended for human food. **Revista de Nutrição**. v. 23. n 3. p. 389-397. 2010.

DELPLANQUE, B. et al. Lipid quality in infant nutrition: current knowledge and future opportunities. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 61, n. 1, p. 8, 2015.

DEN HARTIGH, L. J. Conjugated linoleic acid effects on cancer, obesity, and atherosclerosis: A review of pre-clinical and human trials with current perspectives. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 370, 2019.

DIABA-NUHOHO, P., et al. Impact of exercise intensity on oxidative stress and selected metabolic markers in young adults in Ghana. **BMC research notes**. v. 11, n. 1, p. 634, 2018.

DU, K. **Effect of dietary protein source on satiety, postprandial blood biomarkers, and metabolism**. 2017. Tese de Doutorado. University of Illinois at Urbana-Champaign.

EFFTING, P. S., et al. Resistance Exercise Modulates Oxidative Stress Parameters and TNF- α Content in the Heart of Mice with Diet-Induced Obesity. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, n. AHEAD. 2019.

EL-SHOBAKI, F. A., et al. Whey protein bar supplementation effects combined with resistance training on athletes. **Journal of Biological Sciences**, v. 18. n.8. p. 506–513. 2018.

ENES, B. N., et al. Effect of different fractions of chia (*Salvia hispanica* L.) on glucose metabolism, in vivo and in vitro. **Journal of Functional Foods**, v. 71, p. 104-026, 2020.

FARIA, W.C . S. et al. **Novel soybean-based high protein bar rich in isoflavones improves insulin sensitivity in diabetic Wistar rats**. *Journal of Food Science and Technology*, v. 55, n. 1, p. 21–32, 2018.

FILAIRE, E. et al. Effects of 6 weeks of n-3 fatty acids and antioxidant mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. **European Journal of Applied Physiology**, Heidelberg. 2011.

GIIMIISTAS, M. K. Lipid peroxidation, erythrocyte superoxide-dismutase activity and trace metals in young male footballers. **Yonsei Med J.** v. 44. n. 6. p. 979–86. 2003.

GOLDFARB A. H., et al. Effects of a fruit/berry/ vegetable supplement on muscle function and oxidative stress. **Med Sci Sports Exerc.** v. 43 n.3. p. 501–508. 2011.

GROEN, B. B. L., et al. Intra gastric protein administration stimulates overnight muscle protein synthesis in elderly men. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 302, n. 1, p. E52-E60. 2012.

GRUBIC, T. J., et al. Comparison of ingesting a food bar containing whey protein and isomalto-oligosaccharides to carbohydrate on performance and recovery from an acute bout of resistance-exercise and sprint conditioning: An open label, randomized, counterbalanced, crossover pilot study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, n. 16 v. 1, p. 1–17. 2019.

GUIMARÃES, M. M.; SILVA, M. S. Qualidade nutricional e aceitabilidade de barras de cereais adicionadas de frutos de murici-passa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 68, n. 3, p. 426-433, 2009.

HA, Y. L.; GRIMM, N. K.; PARIZA, M. W. Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. **Carcinogenesis.** v. 8, n. 0. p. 1881–1887.

HALL, W. L. et al. Casein and whey exert different effects on plasma amino acid profiles, gastrointestinal hormone secretion and appetite. **British Journal of Nutrition**, v. 89, n. 2, p. 239-248, 2003.

HAMARSLAND, H. et al. Native whey protein with high levels of leucine results in similar post-exercise muscular anabolic responses as regular whey protein: a randomized controlled trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition.** v. 14, n. 1, p. 43, 2017.

HARAGUCHI F. K., et al. Influência das proteínas do soro sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea de ratos hipercolesterolêmicos. **Rev. Nutr.** v. 22. n. 4. p.517—525. 2009.

HOGAN, S. A., et al. Influence of dairy proteins on textural changes in high-protein bars. **International Dairy Journal.** v. 26. p. 58–65. 2012.

HOWATSON, G., et al. Exercise-induced muscle damage is reduced in resistance-trained males by branched chain amino acids: a randomized, double-blind, placebo controlled study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 20, 2012.

INNES, J. K.; CALDER, P. C. Omega-6 fatty acids and inflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 132, p. 41-48, 2018.

JÄGER, R., et al. International society of sports nutrition position stand: protein and exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 1-25. 2017.

KAKIGI, R., et al. Whey protein intake after resistance exercise activates mTOR signaling in a dose-dependent manner in human skeletal muscle. **European Journal of Applied Physiology**, v.114. n. 4, p. 735–742. 2014.

KAVIANI, S.; COOPER, J. A. Appetite responses to high-fat meals or diets of varying fatty acid composition: a comprehensive review. **European Journal of Clinical Nutrition.** P. 1-12. 2017

KAWAMURA, T.; MURAOKA, I. Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. **Antioxidants**, v. 7, n. 9, p. 119, 2018.

KHASSAF M, et al. Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. **J Appl Physiol.** v. 90 n.3. p. 1031–1035. 2001.

KIM, Y. Conjugated linoleic acid (CLA) promotes endurance capacity via peroxisome proliferator-activated receptor δ -mediated mechanism in mice. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 38, p. 125-133, 2016.

LOPES, L. L., et al. Azeite de Oliva. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. 2ª Edição. Rio de Janeiro. Rubio, 2016. p. 229-240.

LOZANO, M. G. **Amendoim (Arachishypogaea L.): composição centesimal, ácidos graxos, fatores antinutricionais e minerais em cultivares produzidas no Estado de São Paulo**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz.” 2016.

LUO, W., et al. Eccentric exercise and dietary restriction inhibits M1 macrophage polarization activated by high-fat diet-induced obesity. **Life Sciences**, p. 117246, 2020.

MACALUSO, F. et al. Do fat supplements increase physical performance?. **Nutrients**, v. 5, n. 2, p. 509-524, 2013.

MANDIR, N.; GOODLAD, R.A. Conjugated linoleic acids differentially alter polyp number and diameter in the Apc(min/+) mouse model of intestinal cancer. **Cell Prolif.** v. 41, p. 279–291. 2008.

MARCHESE, N. R. NOVELLO, Z. Desenvolvimento e caracterização de barra de cereal salgada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 11, n. 1, 2017.

MARINELI, R. S., et al. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). **LWT — Food Science and Technology**, v. 59, p. 1304–1310. 2014.

MARINELI, R. S., et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) enhances HSP, PGC-1 α expressions and improves glucose tolerance in diet-induced obese rats. **Nutrition**, v. 31, p. 740–748. 2015.

MATSUURA, F. C. A. U. **Estudo do albedo de maracujá e de seu aproveitamento em barra de cereais**. Tese de doutorado, UNICAMP, Campinas, SP, Brasil, 2005.

MAXIMO, G. J.; CUNHA, R. L. Mechanical properties of collagen fiber and powder gels. **Journal of Textures Studies**. 2010.

MCANULTY, S. R., et al. Effect of n-3 fatty acids and antioxidants on oxidative stress after exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 42, n. 9, p. 1704-1711, 2010.

MCMAHON, D. J., et al. Hardening of High-Protein Nutrition Bars and Sugar/Polyol-Protein Phase Separation. **Journal of food science**, v. 74, n. 6, p. E312-E321, 2009.

MEITAL, L T. et al. Omega-3 fatty acids decrease oxidative stress and inflammation in macrophages from patients with small abdominal aortic aneurysm. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2019.

MELLINKOFF, SHERMAN M. et al. Relationship between serum amino acid concentration and fluctuations in appetite. **Journal of applied physiology**, v. 8, n. 5, p. 535-538, 1956.

MENDES, L. B. **Tipos de suplementos mais utilizados por praticantes de musculação, de uma academia da cidade de Criciúma – SC**. Universidade Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.

MICKLEBOROUGH, T. D. ET AL. The effects PCSO-524®, a patented marine oil lipid and omega-3 PUFA blend derived from the New Zealand green lipped mussel (*Perna canaliculus*), on indirect markers of muscle damage and inflammation after muscle damaging exercise in untrained men: a randomized, placebo controlled trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 10, 2015.

MIKA, A. et al. Exercise and conjugated linoleic acid supplementation induce changes in the composition of liver fatty acids. **Frontiers in physiology**, v. 10, p. 602, 2019.

MIOTTO, P. M. ET al. α -Linolenic acid supplementation and exercise training reveal independent and additive responses on hepatic lipid accumulation in obese rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 312, n. 6, p. E461-E470, 2017.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in plant science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.

- MONTEYNE, A. et al. Whey protein consumption after resistance exercise reduces energy intake at a post-exercise meal. **European journal of nutrition**, v. 57, n. 2, p. 585-592, 2018.
- MOREIRA, E. C. M., et al. Soja: Aspectos Nutricionais e Funcionais. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Rio de Janeiro. Rubio, 2ª Edição. p. 189-198. 2016.
- NAGAO, K., et al. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v.3. n.10. p 562–566. 2003.
- NIELSEN. Insights: tendências e análises. 2016. Notícias – A retomada dos snacks no consumo fora do lar. Disponível em: <
<https://www.nielsen.com/br/pt/insights/article/2016/A-retomada-dos-snacks-no-consumo-fora-do-lar/>>. Acesso em: 29 de setembro de 2018.
- NORTON, L.E., et al. The leucine content of a complete meal directs peak activation but not duration of skeletal muscle protein synthesis and mammalian target of rapamycin signaling in rats. **J. Nutr.** v. 139, p. 1103–1109. 2009.
- OERTZEN-HAGEMANN, V., et al. Effects of 12 weeks of hypertrophy resistance exercise training combined with collagen peptide supplementation on the skeletal muscle proteome in recreationally active men. **Nutrients**, 11(5), 1072. 2019.
- PADILHA, C. S., et al. Resistance exercise attenuates skeletal muscle oxidative stress, systemic pro-inflammatory state, and cachexia in Walker-256 tumor-bearing rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 42, n. 9, p. 916-923. 2017.
- PENNINGS B., et al. Exercising before protein intake allows for greater use of dietary protein – derived amino acids for de novo muscle protein synthesis in both young and elderly men 1 – 3. **Am J Clin Nutr.** v. 93. p. 322–331. 2011.
- PEREIRA, M. C., et al. Análise do teor de proteínas e rotulagem de barras proteicas. **Anais do EVINCI-UniBrasil**, v. 3, n. 1, p. 256-256, 2018.
- PESSOA, D. de P., et al. Influência da suplementação de ômega 3 no rendimento físico de praticantes de exercício físico. **Motricidade**, v. 14, n. 1, 2018.

PETERNELJ, T. T.; COOMBES, J. S. Antioxidant supplementation during exercise training. **Sports medicine**, v. 41, n. 12, p. 1043-1069, 2011.

PHILLIPS S., et al. Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *Am J Physiol*. 1997;273:E99-107.

PINTO, V. R. A. Perfil dos consumidores de barras alimentícias sob perceptivas mercadológica, sensorial e de imagem corporal. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Viçosa. 2017.

POLLEY, K. R. et al. Appetite responses to high-fat diets rich in mono-unsaturated versus poly-unsaturated fats. **Appetite**, v. 134, p. 172-181, 2019.

POULIOS, A., et al. Post-Game High Protein Intake May Improve Recovery of Football-Specific Performance during a Congested Game Fixture: Results from the PRO-FOOTBALL Study. **Nutrients**. v. 10. p. 494. 2018.

POWERS S. K., et al. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. **Free Radic Biol Med**. v. 51 n. 5. p. 942–950. 2011.

POWERS S.K., JACKSON M. J. Exercício induzida por stress oxidativo: mecanismos celulares e impacto sobre a produção de força muscular. **Physiol Rev**. v. 88. p. 1243-1276. 2008.

POWERS, S. K., et al. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. **The Journal of physiology**, v. 594, n. 18, p. 5081-5092. 2016.

PRZYBYLA, B. et al. Aging alters macrophage properties in human skeletal muscle both at rest and in response to acute resistance exercise. **Experimental gerontology**, v. 41, n. 3, p. 320-327, 2006.

RA, S. G., ET AL. Effect of BCAA supplement timing on exercise-induced muscle soreness and damage: a pilot placebo-controlled double-blind study. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, 2017.

- RADAK, Z., et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 27, n. 1-2, p. 69-74, 1999.
- RAHBK, S. K., et al. Effects of divergent resistance exercise contraction mode and dietary supplementation type on anabolic signalling, muscle protein synthesis and muscle hypertrophy. **Amino Acids**, v. 46 n.10. p.2377–2392. 2014.
- REEVES, P. G., et al. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. 1993.
- REIDY, P. T., et al. Protein Supplementation Does Not Affect Myogenic Adaptations to Resistance Training. **Med Sci Sports Exerc.** v. 49. n. 6. p. 1197-1208. 2018.
- RES P. T., ET al. Protein Ingestion before Sleep Improves Postexercise Overnight Recovery. **Med Sci Sport Exerc [Internet]**. v. 44. n. 8. p.1560–1569. 2012.
- REYES-CAUDILLO, E., et al. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, p. 656–663. 2008.
- SANTOS-LÓPEZ, J.A., et al. Chia oil-enriched restructured pork effects on oxidative and inflammatory status of aged rats fed high cholesterol/high fat diets. **J. Med. Food.** v. 20. n. 5. p.526-534. 2017.
- SCHOENFELD, B. J., ET al. Dose-response relationship between weekly resistance training volume and increases in muscle mass: A systematic review and meta-analysis. **Journal of sports sciences**, v. 35, n. 11, p. 1073-1082, 2017.
- SEN, S. K. Oxidants and antioxidants in exercise. **J. Appl. Physiol.** v. 79. n. 3. p. 675-686, 1995.
- SIES, H., et al. Oxidative stress. **Annual review of biochemistry**, v. 86, p. 715-748, 2017.

SIMOPOULOS, A. P. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 17, p. 131-134, 2008.

SMITH, M. P. Independent cardioprotective effects of resistance and aerobic exercise training in adults. **European journal of preventive cardiology**, v. 0. n. 0. p.1-3. 2019.

STOKES, Tanner et al. Recent perspectives regarding the role of dietary protein for the promotion of muscle hypertrophy with resistance exercise training. **Nutrients**, v. 10, n. 2, p. 180. 2018.

STOLL B, B. D. G. Measuring splanchnic amino acid metabolism in vivo using stable isotopic tracers. *J Anim Sci.* 2006;84(Suppl):E60–72.

SUN, L. et al. Differential Effects of Monounsaturated and Polyunsaturated Fats on Satiety and Gut Hormone Responses in Healthy Subjects. **Foods**, v. 8, n. 12, p. 634, 2019.

TAKAMURA, Y. et al. Effects of aerobic exercise combined with panaxatriol derived from ginseng on insulin resistance and skeletal muscle mass in type 2 diabetic mice. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 63, n. 5, p. 339-348, 2017.

TAKEGAKI, J., et al. Repeated bouts of resistance exercise attenuate mitogen-activated protein-kinase signal responses in rat skeletal muscle. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 520, n. 1, p. 73-78, 2018.

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

THOMAS, D. T., et al. Nutrition and Athletic Performance. **Medicine & Science In Sports & Exercise**, v. 48, n. 3, p.543-568. 2016.

TIPTON, K. D. et al. Timing of amino acid-carbohydrate ingestion alters anabolic response of muscle to resistance exercise. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 281, n. 2, p. E197-E206, 2001.

TORRE-VILLALVAZO, I., et al. Protein intake and amino acid supplementation regulates exercise recovery and performance through the modulation of mTOR, AMPK, FGF21 and immunity. **Nutrition research**, 2019.

TORTOSA-CAPARRÓS, E. et al. Anti-inflammatory effects of omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids in cardiovascular disease and metabolic syndrome. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 16, p. 3421-3429, 2016.

TRAMUJAS, J. M. **Uso de diferentes agentes ligantes no desenvolvimento de barra de cereal salgada adicionada de chia (Salvia hispânica L.)**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina. 120 f. 2015.

VALKO, M., et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol**. 2007.

VANGSOE, M. T. et al. Ingestion of insect protein isolate enhances blood amino acid concentrations similar to soy protein in a human trial. **Nutrients**, v. 10. n.10, p. 1357. 2018.

VANGSOE, M. T. et al. Effects of Insect Protein Supplementation during Resistance Training on Changes in Muscle Mass and Strength in Young Men. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 335. 2018.

VASSALLE C, et al. Biomarkers to estimate bioefficacy of dietary/supplemental antioxidants in sports. **Antioxidants in sport nutrition**. CRC Press. p. 274-291. 2014.

VELDHORST, M. A. B., et al. Effects of high or normal casein-, soy-, or whey with or without GMP-protein breakfasts on satiety, 'satiety' hormones, and plasma amino acid responses. **Appetite**, v. 49, n. 1, p. 336, 2007.

VELDHORST, M., et al. Protein-induced satiety: effects and mechanisms of different proteins. **Physiology & behavior**, v. 94, n. 2, p. 300-307, 2008.

WALDRON, M., et al. The effects of acute branched-chain amino acid supplementation on recovery from a single bout of hypertrophy exercise in resistance-trained athletes. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 42. n. 6, p. 630–636. 2017.

WANG, W., et al. Co-ingestion of carbohydrate and whey protein increases fasted rates of muscle protein synthesis immediately after resistance exercise in rats. **PloS one**, v. 12, n. 3, 2017.

WEEKS, K. L. Et Al. The IGF1-PI3K-Akt signaling pathway in mediating exercise-induced cardiac hypertrophy and protection. In: **Exercise for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment**. Springer, Singapore, 2017. p. 187-210.

WEISMANN, D., et al. Complement factor H binds malondialdehyde epitopes and protects from oxidative stress. **Nature**, v. 478, n. 7367, p. 76, 2011.

WESTERTERP-PLANTENGA, M. S., et al. Dietary protein—its role in satiety, energetics, weight loss and health. **British journal of nutrition**, v. 108, n. S2, p. S105-S112, 2012.

WILSON, F. A. et al. Differential effects of long-term leucine infusion on tissue protein synthesis in neonatal pigs. **Amino acids**, v. 40, n. 1, p. 157-165. 2011.

WITKAMP, R. F. The role of fatty acids and their endocannabinoid-like derivatives in the molecular regulation of appetite. **Molecular aspects of medicine**, v. 64, p. 45-67, 2018.

YOSHIKAWA, T.; NAITO, Y. What is oxidative stress? **Japan medical association journal**, v. 45, n. 7, p. 271-276, 2002.

ZHENG, F.; CAI, Y. Concurrent exercise improves insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease by upregulating PPAR- γ and genes involved in the beta-oxidation of fatty acids in ApoE-KO mice fed a high-fat diet. **Lipids in health and disease**, v. 18, n. 1, p. 1-8, 2019.

5. METODOLOGIA

O desenvolvimento da barra alimentícia ocorreu no Laboratório de Desenvolvimento de Novos Produtos e Análise Sensorial (DNS/UFV), a caracterização do produto nos Laboratórios de Análise de Alimentos, Laboratório de Nutrição Experimental e Laboratório de Análise de Vitaminas (DNS-UFV), Multivariate Chemical Data Analysis Laboratory (MCDALab) (DEQ-UFV). O ensaio biológico e as análises de estresse oxidativo aconteceram no Laboratório de Nutrição Experimental (DNS-UFV) em parceria com o Laboratório de Biologia do Exercício (BIOEX-UFV). As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde (DAS-UFV).

5.1. Desenvolvimento do produto

O desenvolvimento da barra alimentícia com alto conteúdo de proteínas foi realizado de agosto a novembro de 2018. O amendoim e os demais ingredientes utilizados na elaboração da barra alimentícia foram adquiridos do comércio local, com exceção da soja (variedade UFV105TN) que foi obtida do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO-UFV).

5.1.1. Seleção da matéria-prima

Os ingredientes utilizados na formulação foram escolhidos com base na literatura, de forma que o produto desenvolvido atendesse às normas técnicas para alimentos voltados para desportistas (RDC N° 54, de 12 de novembro de 2012 e RDC N° 18, de 27 de abril de 2010).

Os alimentos escolhidos foram testados durante o processo e as quantidades utilizadas foram ajustadas a fim de alcançar o resultado final desejado. Durante o desenvolvimento, o amendoim, a soja UFVTN105, a proteína do soro do leite, a albumina, o colágeno hidrolisado, a semente de chia e o azeite de oliva extra virgem foram selecionados como ingredientes da formulação, conferindo sabor neutro e ou, levemente salgado à barra, tornando o produto uma inovação de mercado. Ao caracterizar o produto final, foram testados três sabores para avaliar a aceitação dos consumidores: o neutro, que foi acrescido apenas de sal e duas variações de sabor, em que utilizamos uma mistura de

sal e ervas. Com exceção do sal ou do sal + ervas, os demais ingredientes da barra foram utilizados em mesma proporção.

5.2. Análise de composição centesimal

Não havendo diferença estatística entre a aceitação dos três sabores de barra pelos consumidores em potencial, foi realizada análise da composição química centesimal do sabor neutro (adicionada apenas de sal). Esta análise foi realizada em triplicata.

5.2.1. Umidade

O teste de umidade foi realizado pelo método de secagem em estufa, deixando a amostra em estufa de circulação de ar a 105°C, por 24 horas, até que atingisse um peso constante. A amostra foi pesada em placa de petri antes e depois da secagem, seguindo protocolo proposto pela AOAC (2012). O percentual de umidade foi calculado da seguinte forma: $\text{percentual de umidade} = 100 - (\text{peso de umidade} / \text{peso úmido} \times 100)$.

5.2.2. Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por meio do método de determinação das cinzas (total) segundo a AOAC (2012). Após a pesagem da amostra, esta foi incinerada em mufla, com temperatura entre 500 a 600 °C. Após a incineração, os cadinhos com as cinzas foram colocados em dessecador até que atingissem temperatura ambiente. A diferença entre o peso do conjunto e o peso do cadinho vazio correspondeu à quantidade de cinzas na amostra.

5.2.3. Lipídios

A extração de lipídios foi realizada em soxhlet, com éter de petróleo como solvente. Os procedimentos de extração de lipídios seguiram o protocolo proposto pela AOAC (2012).

5.2.4. Proteínas

A análise de proteínas foi realizada pelo método Kjeldahl. Os procedimentos de extração de proteína seguiram o protocolo proposto pela AOAC (2012).

Após a digestão e a destilação das proteínas, foi realizada titulometria de neutralização, onde: o número de miliequivalente do ácido = número de miliequivalente da base, ou seja, n° de meq do HCl = n° de meq do N (mL do ácido x normalidade do ácido = peso N (g) / meq do N) peso N (g) = mL do ácido x normalidade do ácido x 0,014 e peso N (mg) = mL do ácido x normalidade do ácido x 14. De maneira que a porcentagem de N x o fator = porcentagem de proteína total.

5.2.5. Fibra alimentar

A determinação dos teores de fibra alimentar total (FAT) e fibra alimentar solúvel e insolúvel (FAI) das amostras foi pelo método enzimático gravimétrico (AOAC, 2012).

A determinação de fibra alimentar requer o tratamento prévio da amostra por meio de combinações de enzimas e soluções tampões em diferentes níveis de pH e temperaturas, para completa remoção do amido e parcial remoção da proteína. Após a extração da fibra alimentar total, foram descontados cinzas e proteína da fibra.

5.2.6. Carboidratos

A quantidade de carboidratos foi calculada por diferença, os percentuais de proteínas, fibras, lipídios, umidade e cinzas foram somados e em sequência subtraídos de 100. O valor obtido a partir dessa subtração correspondeu ao percentual de carboidratos.

5.3. Atividade Antioxidante

5.3.1. Preparo do extrato

Foram adicionados dois gramas de barra alimentícia a 20ml de solução de acetona 70%. A suspensão foi agitada automaticamente (10 g, 2 h, 25 C) e centrifugado (2865 g, 15 min) (Hermle, modelo Z216MK, Alemanha). O sobrenadante foi transferido para um recipiente e o volume foi completado para 20 mL com solução de acetona 70%. O extrato foi colocado em frasco âmbar e armazenado em freezer ($-18 \pm 1^{\circ}$ C) até a análise.

5.3.2. Atividade de remoção de radical (DPPH)

Em um tubo protegido da luz, 100 μ L do extrato foi adicionado a 1,5 mL de solução metanólica DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) e agitada em vórtex (3000 rpm) por 30s.

A solução foi colocada em repouso por 30 minutos e em seguida absorvância foi lida em espectrofotômetro a 517 nm (Thermo scientific, 606 Evolution, EUA). A curva analítica foi construída usando uma solução de trolox de 50 a 100 mMol / L. O anti-radical (AAR) foi expressa em um equivalente 1 mol trolox/g de amostra (mMol trolox / g) (Bloor, 2001).

5.4. Análise de fenólicos totais

O total de compostos fenólicos na barra foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteau (SINGLETON e colab., 1999), em triplicata. Para análise, 500 µL de extrato foram adicionados a 500 µL de solução de Folin-Ciocalteau 20% e 500 µL de solução de carbonato de sódio 7,5%. Em seguida, a solução foi agitada em vórtex e deixada em repouso por 30 minutos em temperatura ambiente (25°C).

Após o tempo em repouso, a leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Evolution 606, USA) a 765 nm. A quantificação foi calculada conforme curva analítica obtida na leitura da absorvância de solução padrão com diferentes concentrações de ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg GAE/g).

5.5. Perfil de Ácidos Graxos

A primeira etapa desta análise consistiu na extração a frio do óleo da barra no Laboratório de Biotecnologia e Pós-colheita de Macaúba (FIT/UFV). Após a extração o óleo foi centrifugado por 5 minutos a 1600 g, 25°C.

Em seguida, foram pipetados 30 µl do óleo e acondicionados em tubos plásticos. Foram adicionados 2mL de solução a 0,2 mol/L de KOH em metanol, reagindo sob agitação em vórtex por 15 min à temperatura ambiente. Após a reação, foram adicionados 2 mL de água destilada. A extração dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi feita a partir da adição 6 mL de hexano. Em seguida, a solução bifásica formada foi centrifugada e a fase hexânica foi separada em tubo plástico de 15 mL. Foi adicionado ao extrato hexânico 0,3 g de sulfato de sódio anidro para absorção da água remanescente. Uma alíquota da fase hexânica foi succionada com seringa e filtrada com filtro de teflon de 0,22 µm em *vials* de 2 mL. Os *vials* foram tampados e armazenados até a injeção.

As separações foram realizadas em coluna de sílica, capilar SP-2560, com diâmetro interno de 0,18 mm e o tamanho de 75m, acondicionada em cromatógrafo a gás

(GC) Shimadzu GC-2010 com injetor automático. Foi usado o detector por ionização de chama (FID) para a detecção dos ácidos graxos. O volume injetado foi de 0,5µL e o modo de injeção foi *split* de 1:50, o fluxo do gás de arraste (N₂) foi 0,41 mL/min e a pressão da coluna foi de 176,1 kPa. Os compostos foram identificados pelo tempo de retenção usando padrões de referência certificados, utilizando o hexano como solvente e a quantificação foi realizada por meio das áreas dos picos do cromatograma (Mir e Ghoreishi, 2015).

5.6. Quantificação de leucina e isoleucina

A análise da quantificação de leucina e isoleucina da barra com alto conteúdo de proteínas foi realizada a partir de dados científicos sobre a composição de aminoácidos da proteína do soro do leite isolada, soja UFVTN105, amendoim, semente de chia, colágeno hidrolisado e ovoalbumina, respectivamente (Kalman, 2014; Moraes et al, 2006; Freitas & Naves, 2010; Grancieri, Martino & Meija, 2019, Ziegler & Sgarbieri, 2009; American Egg Board, 2019).

5.7. Estudo Experimental

O estudo experimental foi conduzido no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde em parceria com o Laboratório de Biologia do Exercício (BioEx) do Departamento de Educação Física (DES) da UFV. Foram utilizados ratos *Wistar* machos, com idade entre 55 e 60 dias (Raizel, 2017).

5.7.1. Alocação dos animais e duração do experimento

Os animais foram provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFV e transportados em caixas de polietileno, com até cinco ratos cada, em veículo com ar condicionado até o Laboratório de Nutrição Experimental, situado no Departamento de Nutrição e Saúde da UFV, onde ocorreu o procedimento experimental.

No laboratório, os ratos foram alocados em gaiolas de aço inoxidável individuais, em ambiente com temperatura controlada de 22°C ± 3°C, com ciclo de luz de 12 horas, recebendo água e dieta *ad libitum*. O peso corporal e o consumo alimentar dos animais foram registrados semanalmente em balança digital durante o período experimental de oito semanas.

Os grupos tratamento correspondem a: SED (animais sedentários + dieta padrão), SEDP (animais sedentários + dieta padrão + 30% de proteína proveniente da barra), TRE (animais treinados + dieta padrão), TREP (animais treinados + dieta padrão + 30% de proteína proveniente da barra) (Figura 1).

O treinamento e, ou a intervenção foram iniciados quando os animais atingiram 8 semanas de idade. Todos os procedimentos foram realizados sob supervisão de um médico veterinário, de acordo com os princípios éticos na experimentação animal elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e aprovado, sob número de protocolo 89/2018.

5.7.2. Dietas experimentais

A composição das dietas foi baseada na dieta AIN-93M, proposta por Reeves et al., (1993), com o teor de proteína de 12%. Os grupos experimentais que receberam a barra alimentícia tiveram oferta proteica de 20% proveniente desta, a fim de suprir as necessidades aumentadas diante da prática de atividade física regular (CANADA, 2009) (Tabela 1). Os ingredientes que compõem as dietas experimentais foram ajustados considerando além da proteína ofertada pela barra alimentícia, a quantidade de fibra alimentar, amido, e óleo, de modo a manter a densidade calórica semelhante entre as dietas experimentais. A partir do percentual adotado, a quantidade planejada de oferta de proteínas para os animais foi de 15,6%. Esse percentual corresponde ao consumo de 3,12 g de proteína/dia, considerando o consumo de 20g de dieta/dia. Para esse consumo de dieta/dia, a suplementação corresponde a 0,72g/dia de proteína proveniente de barra. Para atender a essa demanda proteica, foi ofertado 80,2g de barra/kg de dieta.

Para o preparo das dietas, todos os ingredientes foram pesados em balança semi-analítica da marca GEHACA[®], modelo BG2000, misturados manualmente e peneirados em peneiras de plástico. Posteriormente, foram homogeneizados em batedeira industrial da marca Leme[®] por 15 minutos. Em seguida, a dieta foi acondicionada em sacos de polietileno, devidamente rotulados e armazenados em freezer (-20 °C).

Todos os animais receberam dieta comercial até o início da intervenção. Uma semana antes do início da intervenção, os animais foram submetidos a um teste de consumo para determinar o percentual de perda no consumo de barra. A forma que resultou num menor percentual de perda (20%) foi a oferta de barra em farelo. Assim,

ofertamos 2g de barra/dia para os grupos alimentados com dieta padrão + barra. Durante a primeira semana de intervenção esse percentual de perda diminuiu para 10%, então a oferta de barra foi ajustada para 1,8g/dia. Durante a intervenção, a oferta da barra alimentícia foi realizada imediatamente após o treino e de forma simultânea aos dois grupos alimentados com dieta padrão + barra. O consumo de barra pelos animais foi calculado diariamente.

Os animais receberam a dieta padrão + barra alimentícia somente nos dias em que o grupo treinado alimentado com barra foi submetido ao exercício físico. Desta forma, os animais receberam dieta padrão + barra alimentícia de segunda a sexta-feira, e aos sábados e domingos os comedouros foram substituídos por novos comedouros e alimentados apenas com a dieta padrão, durante as oito semanas de intervenção.

Tabela 1. Ingredientes utilizados no preparo das dietas experimentais (g/kg).

Ingredientes	AIN-93M		AIN-93M + BARRA	
Albumina	150,0 ^a		150,0 ^a	
Barra Alimentícia	-		80,2	
Maltodextrina	155,0		142,7	
Amido de Milho	455,7		421,8	
Sacarose	100,0		92,1	
Óleo de Soja	40,0		21,5	
Celulose	50		42,4	
Mix Minerais	35		35	
Mix de Vitaminas	10		10	
L-cistina	1,8		1,8	
Bitartarato de colina	2,5		2,5	
Tetrabutylhidroquinona	0,008		0,008	
Total	1000g		1000g	
g/PTN/kg de dieta	137,2		178,5	
DC (kcal/g)	3,58		3,55	
Dieta	CHO (%)	PTN%	LIP%	
AIN-93M	76,22	13,72	10,06	
AIN-93M + Barra	72,02	17,85	10,13	

^aQuantidade utilizada considerando um grau de pureza de 80% da albumina. AIN-93M: Dieta padrão para roedores proposta por Reeves et al. (1993); AIN93M+PTN (30%): Dieta padrão para roedores proposta por Reeves et al. (1993) + suplementação 30% de proteína proveniente da barra; CHO: carboidratos; PTN: proteína; LIP: lipídios; DC: Densidade Calórica

5.7.4. Definição do tipo de atividade física e intensidade

Antes da intervenção, os animais passaram por procedimento de familiarização com a escada vertical e condicionamento por um período 10 dias, sem utilização de pesos. Após esta etapa, foi realizado o teste de peso máximo carregado. A familiarização consistiu em subir a escada com um equipamento de carga sem peso por 1 semana, em dias alternados, num total de 4 sessões de adaptação (NEVES, 2016).

5.7.4.1. Familiarização com a Escada Vertical

Inicialmente, todos os ratos foram adaptados ao protocolo de treinamento subindo uma escada vertical (1,10 m de altura., 0,18m de largura, com grades intercaladas de 2 cm, 80° de inclinação). Uma câmara de alojamento (20 cm largura x 15cm de altura x 30cm de profundidade) foi colocada no topo da escada e serviu de abrigo durante o período de intervalo entre subidas (Figura 1).



Figura 1. Familiarização dos animais com a escada vertical.

5.7.4.2. Teste de Peso Máximo Carregado (PMC)

O primeiro PMC dos animais treinados foi realizado dois dias após o término da etapa de familiarização. Para a subida inicial, o peso carregado foi equivalente a 75% do peso corporal do animal. Em seguida, foram adicionadas cargas de 30 em 30g, até que o animal atingisse sua capacidade máxima, momento que o animal não conseguiu escalar toda a extensão da escada após 4 a 9 tentativas, com um período mínimo de descanso de 90s entre subidas (NEVES, 2016).

A carga mais pesada que o animal conseguiu carregar por toda a extensão da escada foi considerada o PMC (NEVES, 2016).

Este procedimento foi aplicado a cada duas semanas, durante as 8 semanas de experimento (T0, T2, T4, T6) nos dois grupos treinados a fim de determinar as adaptações da força muscular ao longo do tempo.

5.7.4.3. Protocolos de Treinamento de Força Resistido

Após cada teste de PMC, os 2 grupos treinados realizaram 5 sessões/semana em dias consecutivos (de segunda a sexta-feira), entre 08:00 e 12:00 horas, durante 8 semanas, num total de 40 sessões. A sessão de treino consistia em 8 séries de subida, com 1'30" de pausa entre elas, sendo a duração média de cada sessão de treino,

aproximadamente 10-15 minutos. Os ajustes (aumento) de carga foram realizados a cada 15 dias, de acordo com o novo teste de PMC (NEVES, 2016).

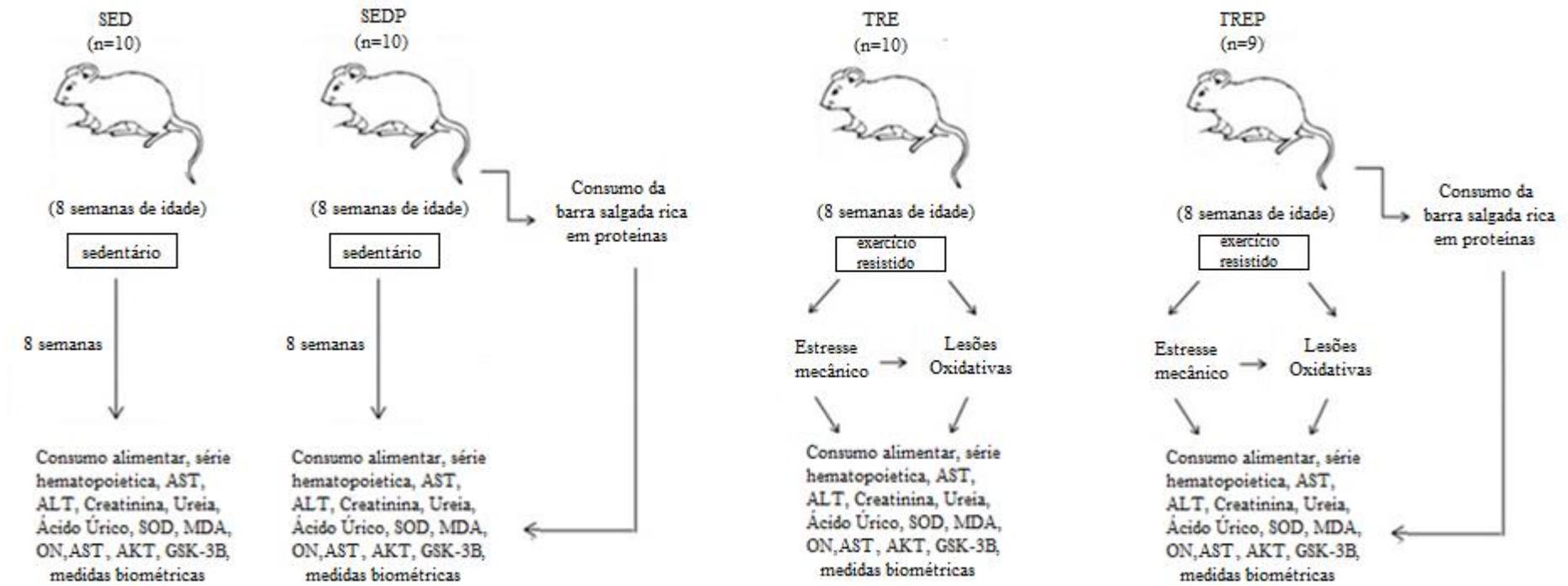


Figura 2. Delineamento experimental do estudo.

5.7.5. Cálculo amostral

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, com oito animais cada, de acordo com o proposto por Conagin (1959), em que cada animal foi considerado uma repetição, de modo que a diferença da média dos pesos entre os grupos não excedesse seis gramas.

Foi utilizada a seguinte equação: $r = 2 * s^2 * (t\alpha + t\beta) * (t\alpha + t\beta) / d^2$, em que:

r = número de repetições calculado

s^2 = variância dos dados de referência

$t\alpha$ = probabilidade do erro tipo 1 em função do grau de liberdade do resíduo

$t\beta$ = probabilidade do erro tipo 2 em função do grau de liberdade do resíduo

d = distância mínima entre médias.

	Média + DP Sedentário	Média + DP Controle Treinado	Média + DP Treinado GLU+ALA	Média + DP Para fórmula
TNF α	1,77 \pm 0,02	2,05 \pm 0,07	1,69 \pm 0,08	1,7975 \pm 0,065
N	8	8	8	8

Fonte: Raizel, 2017.

$s^2 = 0,003249$

$t\alpha = 1,696$

$t\beta = 1,054$

$d = 0,08$

Consideramos estudos prévios com modelo animal e desfechos similares aos da presente pesquisa (Raizel, 2017). Foram adotados quatro tratamentos, com nível de significância igual a 5%. O número de repetições calculado foi 7.67, se aproximando do número de repetições sugerido. Foi proposto, portanto, um total de 32 animais, valor correspondente a 8 repetições por tratamento.

5.7.6. Medidas e marcadores biométricos

5.7.6.1. Índice de massa corporal

O índice de massa corporal (IMC) foi obtido pela relação entre o peso (média calculada por meio dos valores obtidos nas treze semanas) e o quadrado do comprimento (NOVELLI et al., 2007).

5.7.6.2. Circunferência abdominal

A circunferência abdominal foi obtida no ponto médio entre o crânio e os membros pélvicos do animal (REYNÉS et al., 2014).

5.7.6.3. Índice de Lee

Índice de Lee, método para analisar os índices de adiposidade em animais, foi calculado pela fórmula:

$$\text{Índice de Lee} = \sqrt[3]{PC} \div \text{CNA} \times 1000, \text{ onde:}$$

PC = peso corporal;

CNA = comprimento naso-anal.

Foram considerados obesos os animais cujos valores de perímetro abdominal se apresentaram superiores a 17 e de IMC maiores que 0,68 (NOVELLI et al., 2007; REYNÉS et al., 2014).

5.7.6.4. Coeficiente de eficiência alimentar

O coeficiente de eficiência alimentar (CEA) foi dado pela relação entre o ganho de peso e a quantidade total de dieta consumida (ganho de peso x 100)/consumo alimentar total) (DA SILVA et al., 2016).

5.7.6.5. Coeficiente de eficiência energética

Para calcular o coeficiente de eficiência energética (CEE) foram relacionados o peso corpóreo dos animais com o total de calorias consumidas, em que:

$$\text{CEE} = \text{Peso} / \text{kcal consumida}$$

5.7.6.5. Coeficiente de eficiência proteica

Para calcular o coeficiente de eficiência proteica (PER) foram relacionados o ganho de peso final dos animais (GPF) com o consumo proteico total (CP), em que:

$$\text{PER} = \text{GPF} / \text{CP}$$

5.8. Eutanásia

Ao final da 8ª semana experimental, após jejum de 12 horas e 24h após o último treinamento, os animais foram anestesiados com Isoflurano (Isoforine, Cristália®) e eutanasiados por punção cardíaca. O sangue foi coletado em tubos com gel (BD Vacutainer®) e centrifugados a 1.006x g por 10 minutos (FANEM®, São Paulo, Brasil) para obtenção do soro. Em seguida o material foi armazenado a -80°C para análises posteriores.

Parte do tecido muscular esquelético dos animais foi removido imediatamente após a eutanásia, sendo uma parte colocada em solução de formalina 10% por 24h e mantidos em álcool 70% para análise histológica e o restante do tecido muscular foi imediatamente congelada e armazenada a - 80 °C para análises posteriores.

5.9. Análise do desempenho físico

A análise do desempenho físico foi dada pela relação carga/peso a cada repetição do teste de carga durante a intervenção, em que: *relação carga/peso = peso máximo carregado/peso do animal* (Raizel et al, 2017).

5.10. Análises bioquímicas

Amostras de plasma foram utilizadas para realização de hemograma completo, glicose, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia, creatinina, e proteína C reativa ultrasensível (PCR_US). As amostras foram analisadas por métodos colorimétricos utilizando kits comerciais (Bioclin®, Belo Horizonte, Brazil) e conduzidas no analisador químico BS-200 (Bioclin®). Os valores de referência adotados foram propostos por Melo et al. (2010).

5.11. Avaliação da atividade antioxidante

Para mensuração de níveis dos marcadores do estresse oxidativo, foram coletadas e centrifugadas amostras sanguíneas imediatamente após a eutanásia, para análise da capacidade antioxidante total e atividade enzimática da superóxido dismutase, malondialdeído e óxido nítrico. Após a separação do plasma, este foi armazenado a -80°C até a realização das análises.

5.11.1. Capacidade antioxidante total

Para verificar a capacidade antioxidante total do soro, foi utilizado o Antioxidant Assay Kit (Sigma Aldrich), que monitora a capacidade dos antioxidantes presentes no plasma em inibir a oxidação do ABTS (2,2'-azino-di-3-etilbenzotiazolína sulfonato) pela ação da metmioglobina. Foram utilizados 10 µl de plasma e a leitura de absorvância foi realizada a 405nm (Thermo Scientific® modelo Multiskan GO).

5.11.2. Preparo do homogeneizado

Para preparo do homogeneizado, o bíceps direito dos animais foi pesado, macerado e homogeneizado em tampão fosfato (1 mM de Tris-HCl + 0,1 mM de EDTA-2Na + 0,8% de NaCl, pH 7,4) para produzir homogeneizado a 10% (p/v). Os homogeneizados foram centrifugados a 10000 x g por 10 min a 4 C, e os sobrenadantes foram usados para análises ou armazenados a -80 ° C até serem utilizados.

5.11.3. Atividade da superóxido dismutase

A atividade de Superóxido Dismutase (SOD) foi mensurada no homogeneizado de acordo com o método descrito por Marklund (1985). O método é baseado na capacidade da SOD em inibir a auto-oxidação do pirogalol. Para o preparo da reação foi preparado tampão fosfato utilizando fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) e fosfato de sódio dibásico (Na₂HPO₄). Para a reação foram utilizados Pirogalol e MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2H]- 2,5-difenilterazolio) e Dimetilsulfóxido (DMSO).

O homogeneizado foi pipetado em placa de 96 poços e em seguida os reagentes foram adicionados. A placa foi incubada por 5 minutos a 37°C, logo após 150µL de DMSO foram adicionados para interromper a reação. A placa foi lida em espectrofotômetro de placas à 570 nm (Multiskan Go, Thermo Scientific®). Após a leitura da placa o valor de absorvância foi convertido em unidade de SOD pela subtração do valor de absorvância da amostra pelo valor do branco, seguido pela divisão desse valor pelo encontrado na subtração do padrão pelo branco. O resultado foi representado em U de SOD /mg de proteína.

5.11.4. Malondialdeído

A peroxidação lipídica foi determinada por meio do ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) utilizando o método descrito por (Buege e Aust, 1978). A determinação da concentração de TBARS se baseia na capacidade do ácido tiobarbitúrico (TBA) em se ligar a lipídeos oxidados. Foram adicionados em 200 μ L de homogeneizado, 200 μ L de solução de TBARS (ácido tricloroacético 15%, ácido tiobarbitúrico 0,075% e HCl 0,25 M). Após agitação em vórtex, as misturas foram incubadas por 40 minutos a 90° C, sendo em seguida acrescentados 600 μ L de n-butanol e centrifugada por 10 minutos a 900 \times g com a retirada da fase orgânica, na qual foi determinada a absorbância em 532 nm em espectrofotômetro Multiskan™ GO (Thermo Fisher Scientifics; Waltham, MA, EUA). Os resultados foram expressos em nanomoles de MDA por miligrama de proteína (MDA / PTN). A proteína total do homogeneizado do músculo foi quantificada pelo método de Bradford (1976).

5.11.5. Óxido nítrico

A concentração de óxido nítrico foi determinada pelo método de Griess (GREEN et al, 1982). O reagente de Griess é uma mistura 1:1 de 1% de sulfanilamida (I) e 0,1% de naftiletlenodiamino-bicloridrato (II) em ácido ortofosfórico (H₃PO₄) a 2,5%. Foram misturados 50 μ L da solução I e 50 μ L da solução II formando o reagente de Griess. 50 μ L do homogeneizado foram pipetados em duplicata em uma placa tipo Elisa de 96 poços. Em seguida, 100 μ L de reagente Griess foram adicionados aos poços.

A mistura foi incubada por 10 minutos em ambiente escuro e a densidade óptica foi medida em espectrofotômetro Multiskan™ GO (Thermo Fisher Scientifics; Waltham, MA, EUA) a 570 nm. As concentrações de óxido nítrico foram calculadas a partir de uma curva-padrão realizada com uma solução de 6,9 mg de nitrito de sódio (NaNO₂) em 400 mL de tampão fosfato (pH 7,0) expressos em μ M. Os valores utilizados para o cálculo da curva-padrão de NaNO₂ variaram de 125 a 0,97 μ M.

5.12. Expressão gênica no músculo

Foi feita a extração do mRNA com o reagente Trizol e o DNA complementar foi sintetizado utilizando Kit de transcrição reversa M-MLV de acordo com o protocolo do fabricante (Invitrogen). A expressão do mRNA foi realizada pela Reação em Cadeia da

Polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR), utilizando o equipamento StepOnePlus™ Real-Time PCR System. Nos músculos braquiais direitos, para análise da via de hipertrofia muscular foi utilizada sequência de *primer* (Choma Biotechnologies) senso e anti-senso para a AKT e para análise da via de atrofia muscular, foi utilizado o mesmo tipo de sequência de primer para glicogênio sintase quinase 3β (GSK-3β) (Quadro 1). A expressão relativa dos níveis de mRNA foi normalizada pelo controle endógeno gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH) para ratos. Todas as etapas foram realizadas em condições livre de RNase.

Quadro 1. Sequência dos *primers* analisados.

<i>Primer</i>	Senso	Anti-senso
AKT	GGG CCA CGG ATA CCA TGA AC	AGC TGA CAT TGT GCC ACT GA
GSK-3β	TTC TCG GTA CTA CAG GGC ACC A	GTC CTA GCA ACA ATT CAG CCA ACA
GADPH	TGC ACC ACC AAC TGC TTA	GGA TGC AGG GAT GAT GTTC

AKT:Proteína Quinase B; GSK-3β:Glicogênio Sintase Quinase 3 beta; GAPDH:Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase.

5.13. Quantificação de AKT

Para determinar as concentrações de proteínas, as amostras de tecido muscular foram homogeneizadas usando tampão fosfato. A AKTp foi avaliada por imunoenensaio usando o kit Elisa (Sigma Aldrich®). A absorbância foi medida por espectrofotometria em um comprimento de onda a 450 nm. A concentração das proteínas nas amostras foi calculada comparando-as com a curva padrão correspondente, em que:

$$\text{dosagem de akt} = 0,1217 * \text{abs} + 0,2189.$$

5.14. Análise histológica das fibras musculares

Os tecidos foram cortados longitudinalmente e desidratados. Em seguida foram incluídos em paraplast. Para a determinação da frequência da área de secção transversa das fibras musculares do bíceps e dos tipos de estruturas celulares foram realizados cortes longitudinais no tecido, que foi incluso em paraplast. Em seguida, o material foi cortado em micrótomo e os cortes corados com hematoxilina e eosina. Os cortes corados foram utilizados para a documentação fotográfica de dez campos histológicos (266 pontos aleatórios; 20× de aumento) dos músculos avaliados para cada animal. A frequência das estruturas celulares e a área de secção transversa foram analisados utilizando os softwares Image J versão 1.8 e Image Pro Plus Versão 6.0, respectivamente.

5.15. Análise Estatística

A pressuposição de homogeneidade de variâncias entre os grupos foi avaliada pela consistência e distribuição das variáveis por meio do teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Os tratamentos dos dados destes grupos foram realizados utilizando a análise de variância (ANOVA) de duas entradas para variáveis com distribuição normal. Posteriormente, foi procedida a comparação das médias pelo teste *post hoc* de Newman Keuls. Quando necessário foi aplicado teste *t* de Student. Todas as análises estatísticas foram realizadas pelo software GraphPad Prisma versão 7.0 considerando o nível de 5 % de significância.

5.16. Aspectos Éticos

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa, sob registro 89/2018. Todos os procedimentos experimentais com os animais foram realizados em consonância com os princípios éticos na experimentação animal.

REFERÊNCIAS

American Egg Board. Chicago, IL. 2019.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International.** 19th ed. Gaithersburg, Md. AOAC, 2012.

Bloor, S. J. (2001). Flavonoids and other polyphenols. *Methods in enzymology.* Elsevier.

BRADFORD, J. M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n. 1-2, p. 248, 1976.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

CANADA, D. O. F. APA, 1994a American Psychiatric Association (APA) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4.th ed. [DSM-IV]). Washington, D.C: **American Psychiatric Association**; 1994. Nutrition and Athletic Performance, 709–731. 2009.

CONAGIN, A. Recent tests for comparison of means. **Bragantia**, v. 18, n. UNICO, p. 01-12, 1959.

DA SILVA, Barbara Pereira. et al. Chia Seed Shows Good Protein Quality, Hypoglycemic Effect and Improves the Lipid Profile and Liver and Intestinal Morphology of Wistar Rats. **Plant foods for human nutrition**, v. 71, n. 3, p. 225-230, 2016.

FREITAS, Jullyana Borges; NAVES, Maria Margareth Veloso. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 269-279, 2010.

GRANCIERI, M., MARTINO, H. S. D., & GONZALEZ DE MEJIA, E. Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) as a Source of Proteins and Bioactive Peptides with Health Benefits: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 18(2), 480–499. 2019.

- GREEN, L. C.; et al. Analyses of nitrate, nitrite and nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, v. 126, n. 1, p. 131-138, 1982.
- JAIN, S. et al. Toxicity of multiwalled carbon nanotubes with end defects critically depends on their functionalization density. ***Chemical research in toxicology***, v. 24, n. 11, p. 2028-2039, 2011.
- KALMAN, Douglas S. Amino acid composition of an organic brown rice protein concentrate and isolate compared to soy and whey concentrates and isolates. ***Foods***, v. 3, n. 3, p. 394-402, 2014.
- MARKLUND, S. Pyrogallol autooxidation. In: *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research* (CRC Press Boca Raton FL), p. 243-247, 1985.
- MORAES, Rita Maria Alves de et al. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. ***Pesquisa Agropecuária Brasileira***, v. 41, n. 5, p. 715-729, 2006.
- MIR, M., & GHOREISHI, S. M. Response Surface Optimization of Biodiesel Production via Catalytic Transesterification of Fatty Acids. ***Chemical Engineering & Technology***, v. 38, n. 5, p. 835–834. 2015.
- NEVES, R. V. P., SOUZA, M. K., PASSOS, C. S., BACURAU, R. F. P., SIMOES, H. G., PRESTES, J., MORAES, M. R. Resistance training in spontaneously hypertensive rats with severe hypertension. ***Arquivos brasileiros de cardiologia***. v. 106, n. 3, p. 201-209, 2016.
- NOVELLI, E. L. B., DINIZ, Y. S., GALHARDI, C. M., EBAID, G. M. X., RODRIGUES, H. G., MANI, F., ... & NOVELLI FILHO, J. L. V. B. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. ***Laboratory animals***. v. 41, n. 1, p. 111-119, 2007.
- RAIZEL, R. **Efeito da suplementação com L-glutamina e L-alanina, livres ou como dipeptídeo, sobre a lesão, inflamação e citoproteção em modelos de estresse in vivo e in vitro**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2017.
- SALTER M., KNOWLES R. G., MONCADA S: Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca²⁺- dependent and Ca²⁺-independent nitric oxide synthases. ***FEBS Lett.*** v. 291. p. 145–149. 1991.

SINGLETON, V. L, ET AL. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: **Methods in enzymology**. Academic press. p. 152-178. 1999.

ZIEGLER, Fabiane La Flor; SGARBIERI, Valdemiro Carlos. Caracterização químico-nutricional de um isolado proteico de soro de leite, um hidrolisado de colágeno bovino e misturas dos dois produtos. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 61-70, 2009.

6. RESULTADOS

ARTIGO

BARRA PROTEÍCA DE SABOR SALGADO MELHORA O DESEMPENHO FÍSICO E REDUZ O CONSUMO ALIMENTAR EM RATOS ADULTOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO RESISTIDO

RESUMO

O objetivo deste estudo foi dividido em duas etapas: a primeira etapa foi desenvolver uma barra alimentícia de sabor salgado rica em proteínas, fibra alimentar e lipídios e caracterizá-la quanto à composição centesimal, perfil de ácidos graxos, conteúdo de compostos fenólicos e antioxidantes, avaliando sua aceitação sensorial por consumidores em potencial. Em seguida, avaliar o efeito do consumo de 20% do aporte proteico proveniente da barra desenvolvida no desempenho físico, hipertrofia muscular e variáveis metabólicas de ratos *Wistar* submetidos ao exercício resistido. Ratos *Wistar* machos (n = 8/grupo) adultos jovens, submetidos ou não ao exercício de resistido, receberam ou não dietas 20% do aporte proteico proveniente da barra desenvolvida, durante oito semanas. Foram avaliadas medidas de consumo alimentar, biométricas, bioquímicas, histológicas, de desempenho físico, de hipertrofia e de estresse oxidativo. A barra alimentícia apresentou conteúdo de proteínas de 44,9%, 23,0% de lipídios e 9,47% de fibra alimentar total. O perfil de ácidos graxos da barra foi composto principalmente por ácido oleico e ácido linoleico, correspondendo a 62,61% do total. Quanto ao ensaio biológico, a oferta proteica proveniente da barra reduziu o consumo alimentar ($p < 0,05$) nos grupos suplementados, sem diferenças para medidas biométricas, variáveis bioquímicas e marcadores de estresse oxidativo ($p > 0,05$). A barra também melhorou o desempenho físico ($p < 0,05$). Os resultados histológicos demonstraram que o consumo da barra proteica aumentou ($p < 0,05$) a proporção de miócitos. Entretanto, a interação entre exercício resistido e aporte proteico proveniente da barra não foi capaz de promover maior hipertrofia e aumento da atividade da proteína quinase B (AKT) entre os grupos treinados. No entanto, a atividade da enzima glicogênio sintase 3β (GSK- 3β) reduziu significativamente nos grupos treinados e no grupo sedentário alimentado com barra. Em conclusão, a barra proteica desenvolvida apresentou alto conteúdo de proteínas, lipídios e fibra alimentar, sem adição de açúcares, com um perfil de ácidos graxos desejável. A

barra alimentícia auxiliou na redução do consumo alimentar, manteve o controle metabólico e melhorou o desempenho físico de animais adultos jovens submetidos ao exercício de força resistido.

Palavras chave: barra de proteína, exercício, hipertrofia muscular, ácidos graxos, rato *Wistar*.

1. INTRODUÇÃO

A prática de atividade física regular tem sido estimulada devido aos efeitos benéficos à saúde, redução de risco de doenças crônicas não transmissíveis, como hipertensão arterial, resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2 e câncer (SPARKMAN e colab., 2019; TAKAMURA e colab., 2017). O exercício de força resistido está diretamente ligado ao aumento de força e à hipertrofia muscular devido ao aumento da expressão de proteínas associadas às vias anabólicas em detrimento das vias catabólicas, aliadas a um balanço energético positivo (Takegaki et al., 2017; Tipton & Wolfe 2001). Além disso, o exercício resistido realizado com altas cargas é capaz de promover maior ganho de força quando comparado aos de baixa carga (SCHOENFELD e colab., 2017).

Sessão única de exercício resistido também resulta na produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs), causando um desequilíbrio no balanço oxidativo. Contudo, a prática regular de atividade física permite que o organismo se reestabeleça, por meio da hormese (COFFEY e HAWLEY, 2007), em que o organismo melhora sua defesa antioxidante para minimizar os danos provocados pelas EROs e ERNs (KAWAMURA e MURAOKA, 2018).

A prática regular de exercício físico gera um aumento da demanda energética pelo organismo e requer um aporte adequado de proteínas para estimular a síntese proteica muscular e minimizar a perda de massa magra, tornando as necessidades proteicas aumentadas em desportistas. Diante disso, modificações na composição e qualidade da dieta, visando o aumento do consumo calórico e proteico têm sido estudadas com o intuito de aumentar o efeito protetor ao organismo em indivíduos treinados, associado ao aumento do desempenho esportivo (MARCHESATO e SOUZA, 2017).

A oferta proteica adequada para desportistas pode aumentar o aporte de proteínas no período de recuperação, estimulando a hipertrofia muscular (MORTON e colab.,

2018). Ao estimular a hipertrofia muscular, a suplementação associada ao exercício resistido pode promover também aumento de massa magra e diferenciação dos tipos de fibra muscular I e II (INDRIO e colab., 2016).

É nesse contexto que as barras alimentícias se inserem, por se tratarem de um produto com crescente demanda de mercado, além de serem de fácil acesso e rápido consumo (Nielsen, 2016). Um dos grandes desafios para o desenvolvimento destas é combinar os ingredientes e seus nutrientes de maneira a transformá-los em uma mistura que tenha sabor, aparência e textura agradáveis, ofertando compostos nutricionais específicos (Marchese e Novello, 2017). No entanto, muitas das barras comercializadas são constituídas por alimentos ricos em açúcares e, ou gorduras saturadas, conservantes e aditivos químicos para se tornarem palatáveis e adquirirem um tempo maior de validade (BOSQUESI e colab., 2016).

Em consequência da funcionalidade, praticidade de consumo, e por possuir nutrientes, em especial proteínas, que favorecem reparação e crescimento muscular, além de promover a saciedade, as barras proteicas passaram a ser bastante consumidas por diferentes públicos, principalmente atletas e indivíduos fisicamente ativos. Estas pessoas objetivam melhorar o metabolismo e alcançar resultados satisfatórios de forma mais rápida aliando os exercícios físicos com a nutrição (BOSQUESI e colab., 2016).

Na literatura se encontram disponíveis estudos que investigam o efeito do aporte proteico proveniente de barras alimentícias (proteína do soro do leite e proteína isolada de soja) em co-morbidades como a diabetes (FARIA e colab., 2018) e em sessões agudas de exercício resistido (GRUBIC e colab., 2019). No entanto, são escassos em estudos que avaliem o efeito de suplementação proteica proveniente de uma barra alimentícia com diferentes fontes proteicas combinadas no comportamento metabólico e oxidativo em animais praticantes de atividade física. Nesse contexto, nosso estudo tem como objetivo

desenvolver uma barra alimentícia de sabor salgado com alto conteúdo de proteínas que exerça efeito protetor ao equilíbrio metabólico, ao estresse oxidativo e ao desempenho físico de ratos *Wistar* submetidos ou não ao exercício de força resistido.

2. METODOLOGIA

2.1. Desenvolvimento da barra

Três sabores de barra foram desenvolvidos e ambas à base de amendoim e soja torrados e triturados, proteína isolada do soro do leite, semente de chia, azeite extravirgem e colágeno de modo que todas apresentassem o mesmo teor de proteínas. A diferença entre os sabores foi a adição de outros ingredientes, como *lemon pepper* e páprica defumada ao sal, para saborizar os produtos. As barras foram elaboradas a partir da mistura da matéria prima previamente pesada em balança (Toledo®, Brasil) e cocção a seco dessa mistura. A mistura consistiu em duas camadas, uma camada mais úmida, contendo amendoim (21,6g/100g), proteína do soro do leite (10,8g/100g), água (9,6g/100g), ovoalbumina (7,2g/100g), semente de chia (6g/100g), colágeno (4,8g/100g), azeite (3g/100g) e soja (2,4g/100g). A outra camada com ingredientes secos, contendo amendoim (24g/100g), soja (12g/100g), água (7,2g/100g) e colágeno (3,6g/100g). A cocção a seco foi realizada em forno elétrico pré-aquecido a 180°C, em forma 12x26x5cm untada com azeite por 30 minutos. Ao fim desta etapa, foi realizado corte retangular 10 cm x 1,5cm (83g).

2.2. Análise de Composição Centesimal

A determinação de umidade da barra alimentícia e das dietas experimentais utilizadas no ensaio biológico foi realizada por secagem em estufa por 24h, proteínas pelo método de Kjeldahl, extração de lipídios em soxlet e cinzas em Mufla a 600°C, de acordo como proposto pela Associação Oficial de Análises Químicas (AOAC, 2012). As fibras

alimentares solúveis e insolúveis foram determinadas pelo método enzimático gravimétrico de acordo com metodologia proposta pela AOAC (2012) e o conteúdo de carboidratos digeríveis foi calculado por diferença. O valor energético foi calculado por meio da soma das calorias ofertadas pelas proteínas, carboidratos e lipídios, considerando 4kcal/g para carboidratos e proteínas e 9kcal/g para lipídios.

2.3. Determinação da atividade antioxidante da barra proteica

2.3.1. Preparação de extratos - Dois gramas da barra foram adicionados a uma solução de 20 mL de acetona a 70%. Em seguida, a suspensão foi agitada automaticamente (10g, 2h, 25 °C) e centrifugado (2865g/15 min) (Hermle®, modelo Z216MK, Alemanha). O sobrenadante foi retirado e transferido para uma proveta graduada, completando o volume para 20 mL com acetona a 70%. O extrato foi colocado em frasco âmbar e armazenado em freezer (18 ± 1 °C) até o momento da análise (Da Silva, 2017).

2.3.2. Atividade de remoção do radical (DPPH) - Em tubo de ensaio, protegido de luz, 100 µL do extrato (como descrito no item 2.4.1) foram adicionados a 1,5 mL de solução metanólica de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) e agitada em vórtex (1500g) por 30s. Após 30 minutos de repouso, a absorbância foi lida em um espectrofotômetro (Thermo scientific®, 606 Evolution, EUA) a 517 nm. A curva analítica foi construída usando uma solução de trolox de 50 a 100 mol / L. O anti-radical atividade (AAR) foi expressa em um µmol (Bloor, 2001).

2.4. Determinação do teor total de compostos fenólicos

O conteúdo total de compostos fenólicos da barra foi determinado usando o método Folin-Ciocalteu (SINGLETON e colab., 1999). Alíquotas de 0,5 mL de extrato obtidas no item 2.4.1. foram adicionados a 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (20%). Após a homogeneização, foram adicionados 0,5 mL de carbonato de sódio (7,5%). A mistura de reação foi homogeneizada por vórtex (2865 g/10s) e incubado à temperatura ambiente por 30 minutos. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Thermo scientific®, Evolution 606, EUA) a 765 nm. A curva analítica de ácido gálico (0,005–0,10 mg/mL) foi utilizada para quantificar os compostos fenólicos. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico/g de barra alimentícia (mg GAE/g).

2.5. Análise e quantificação do perfil de ácidos graxos

A primeira etapa desta análise consistiu na extração do óleo da barra alimentícia. A extração do óleo foi realizada por prensagem a frio no Laboratório de Biotecnologia e Pós-colheita de macaúba (FIT/UFV). Após a extração o óleo foi centrifugado por 5 minutos a 1600 g, a 25°C.

Em 30 µl do óleo, acrescentou-se 2 mL de solução a 0,2mol/L de KOH em metanol, e deixou-se reagir sob agitação em vórtex por 15 min à temperatura ambiente. Após a reação, adicionou-se 2 mL de água destilada. A extração dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi feita a partir da adição 6 mL de hexano. Em seguida, formou-se uma solução bifásica, que foi centrifugada e a fase hexânica foi separada em tubo plástico. Foi adicionado ao extrato hexânico 0,3 g de sulfato de sódio anidro para absorção da água remanescente. Uma alíquota da fase hexânica foi succionada com seringa e filtrada com filtro de teflon de 0,22 µm em *vials* de 2 mL. Os *vials* foram tampados e armazenados até a análise.

As separações foram realizadas em coluna de sílica, capilar SP-2560, com diâmetro interno de 0,18 mm e o tamanho de 75m, acondicionada em cromatógrafo a gás (GC) Shimadzu® GC-2010 com injetor automático. Foi usado o detector por ionização de chama (FID) para a detecção dos ácidos graxos. O volume injetado foi de 0,5µL e o modo de injeção foi split de 1:50, o fluxo do gás de arraste (N₂) foi 0,41 mL/min e a pressão da coluna foi de 176,1 kPa. Os compostos foram identificados pelo tempo de retenção usando padrões de referência certificados, utilizando o hexano como solvente e a quantificação foi realizada por meio das áreas dos picos do cromatograma (MIR e GHOREISHI, 2015).

2.6. Quantificação de leucina e isoleucina

A análise da quantificação de leucina e isoleucina da barra com alto conteúdo de proteínas foi realizada a partir de dados científicos sobre a composição de aminoácidos da ovo albumina, soja UFVTN105, amendoim, semente de chia, colágeno hidrolisado e proteína do soro do leite isolada, respectivamente (American Egg Board, 2019; De Moraes et al., 2006; Freitas & Naves, 2010; Grancieri et al., 2019; Kalman, 2014; Ziegler & Sgarbieri., 2010).

2.7. Desenho Experimental

2.7.1 *Ensaio Biológico*

Trinta e dois ratos *Wistar* machos (*Rattus norvegicus*, *Wistar*, variação albina) com 56 dias de idade pesando aproximadamente 260g, foram obtidos do Biotério Central de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e adaptadas ao local de experimentação por uma semana. Os animais foram alocados em uma sala com temperatura controlada ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), em gaiolas individuais de aço inoxidável com ciclos de luz claro e escuro de 12h. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (n=8 animais/grupo): **SED**: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M); **SEDP**: animais sedentários + dieta padrão + 20% de proteína provenientes da barra proteica;

TRE: animais treinados + dieta padrão; **TREP:** animais treinados + dieta padrão + 20% de proteína provenientes da barra proteica nos dias de treino.

Durante a intervenção, a oferta da barra alimentícia foi realizada imediatamente após o treino e de forma simultânea aos dois grupos alimentados com dieta padrão + barra. Os animais receberam a dieta padrão + barra alimentícia somente nos dias em que o grupo treinado alimentado com barra foi submetido ao exercício físico. Nos dias em que os animais não foram submetidos ao exercício resistido, os comedouros foram substituídos por novos comedouros e alimentados apenas com a dieta padrão, durante as oito semanas de intervenção. Os animais receberam dieta e água deionizada *ad libitum* por oito semanas.

2.7.2. Preparo da dieta

As dietas experimentais foram baseadas na dieta padrão AIN-93M recomendada para manutenção de roedores adultos (REEVES e colab., 1993). Inicialmente foi preparada a dieta padrão para roedores utilizada pelos grupos controles (Grupos SEDe TRE). A dieta AIN93M foi modificada para os dois grupos intervenção (Grupos SEDP e TREP) para garantir que as dietas apresentassem os mesmos teores de carboidratos, lipídeos, fibras e calorias, diferindo apenas no teor de proteínas (Tabela 2).

Tabela 2. Composição, macronutrientes e densidade calórica das dietas experimentais (g/kg).

Ingredientes	AIN-93M	AIN-93M + PTN DA BARRA	
Albumina	150,0 ^a	150,0 ^a	
Barra Alimentícia	-	80,2	
Maltodextrina	155,0	142,7	
Amido de Milho	455,7	421,8	
Sacarose	100,0	92,1	
Óleo de Soja	40,0	21,5	
Celulose	50	42,4	
Mix Minerais	35	35	
Mix de Vitaminas	10	10	
L-cistina	1,8	1,8	
Bitartarato de colina	2,5	2,5	
Tetrabutylhidroquinona	0,008	0,008	
Total (g)	1000	1000	
g/PTN/kg de dieta	137,2	178,5	
DC (kcal/g)	3,58	3,55	
Dieta	CHO (%)	PTN%	LIP%
AIN-93M	76,22	13,72	10,06
AIN-93M + Barra	72,02	17,85	10,13

^aQuantidade utilizada considerando um grau de pureza de 80% da albumina. AIN-93M: Dieta padrão para roedores proposta por Reeves et al. (1993); AIN93M+PTN: Dieta padrão para roedores proposta por Reeves et al. (1993) + proteína proveniente da barra; CHO: carboidratos; PTN: proteína; LIP: lipídios; DC: Densidade Calórica

2.7.3. Protocolo de treino

O protocolo de exercícios de 8 semanas foi adaptado de Hornberger & Farrar (2004), que consiste na subida de uma escada vertical (1m x 0,18 m, com grades intervaladas a cada dois centímetros e uma inclinação de 80°. As cargas foram presas à base da cauda dos animais. Durante o período de aclimação (2 semanas antes da intervenção), todos os animais foram familiarizados com o aparelho sem carga adicionada.

Foram realizados quatro testes de carga máxima (TCM), no tempo 0, 2, 4 e 6 semanas. Os TCM consistiam em uma subida com carga correspondente a 75% do peso

corporal, acrescidas de 30/30g a cada nova subida, até atingir a exaustão. Os treinos consistiam em uma série de oito subidas, com intervalo de 1'30" entre subidas. Cada dia de exercício foi considerado uma sessão, totalizando 40 sessões (5x/semana).

2.7.4. Eutanásia

No 57º dia, após 12h de jejum, os animais foram anestesiados com isoflurano (Isoforine, Cristalia®) e submetidos a eutanásia por punção cardíaca (Natal et al., 2017). O sangue foi centrifugado em tubos sem anticoagulante em temperaturas inferiores a 4°C a 1006 g por 10 minutos (Fanem®, 204, São Paulo, Brazil) para obtenção do plasma. Os músculos braquiais foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80°C para análises posteriores.

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com os princípios éticos da experimentação animal e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV) em fevereiro de 2019, processo número 89/2018.

2.8. Análise do Desempenho físico

A análise do desempenho físico ocorreu adaptado de (COQUEIRO et al., 2018) pela relação carga/peso corporal a cada repetição do teste de carga durante a intervenção, em que: $\text{relação carga/peso} = \text{peso máximo carregado (g)}/\text{peso do animal (g)}$.

2.9. Expressão gênica muscular

A extração do mRNA foi realizada com o reagente Trizol e o DNA complementar sintetizado utilizando-se um Kit de transcrição reversa M-MLV de acordo com o protocolo do fabricante (Invitrogen®). A expressão do mRNA foi realizada pela Reação

em Cadeia da Polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR), utilizando-se o equipamento StepOnePlus™ Real-Time PCR System.

Nos músculos braquiais direito, para análise da via de hipertrofia muscular foi utilizada sequência (Choma Biotechnologies) senso e anti-senso para a AKT (5' - GGG CCA CGG ATA CCA TGA AC3'; rv: AGC TGA CAT TGT GCC ACT GA 3') e e para a via de atrofia muscular foi utilizada a sequência (5' – TTC TCG GTA CTA CAG GGC ACC A 3' ; rv: 5' GTC CTA GCA ACA ATT CAG CCA ACA 3') para glicogênio sintase quinase 3 β (GSK-3 β). A expressão relativa dos níveis de mRNA foi normalizada pelo controle endógeno gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH) para ratos, sequência (5' TGC ACC ACC AAC TGC TTA; rv: GGA TGC AGG GAT GAT GTTC).

2.10. Quantificação de proteínas relacionadas a gênese muscular

Para determinar a concentração de proteína quinase B (AKT), as amostras de tecido muscular foram homogeneizadas em tampão fosfato 50mM com EDTA. A AKT fosforilada foi avaliada por imunoenensaio usando o kit ELISA (Sigma Aldrich®, MI, EUA). A absorbância foi medida por espectrofotometria em um comprimento de onda a 450nm (Thermo Scientific® modelo Multiskan GO). A concentração da proteína nas amostras foi calculada por meio da curva padrão correspondente.

2.11. Análise Histológica

Para a determinação do percentual de células e da área de secção transversa (CSA) das fibras musculares do bíceps, os cortes foram corados com hematoxilina e eosina. Os cortes corados foram utilizados para a documentação fotográfica de dez campos histológicos (266 pontos aleatórios; 20 \times de aumento) dos músculos avaliados para cada animal. A frequência das estruturas celulares e a área de secção transversa foram

analisados utilizando os softwares Image J versão 1.8 e Image Pro Plus Versão 6.0, respectivamente.

2.12. Análise do estresse oxidativo muscular

Preparo do Homogeneizado

Para obtenção do homogeneizado, 100 mg de tecido muscular braquial foi misturado com 500µl de tampão fosfato (50mM) e 1mM de EDTA (pH 7.4). As amostras foram maceradas e centrifugadas a 10000g a 4°C por dez minutos e o sobrenadante foi retirado e armazenado a -80°C para análises de SOD, MDA e ON.

2.12.3. Superoxido Dismutase (SOD)

A quantificação de SOD foi realizada em unidades relativas e a unidade foi definida como a quantidade de enzima SOD capaz de inibir a oxidação de pirogalol em 50%. A análise foi realizada em espectrofotômetro (Multiskan® GO, Thermo Scientific) a 570 nm de absorvância. Os resultados foram expressos em unidades de atividade da SOD por miligrama de proteína (Marklund, 1995). A proteína total no homogeneizado do músculo foi quantificada pelo método de Bradford (1976).

2.12.4. Malondialdeído (MDA)

O MDA foi quantificado pelo método de reação das substâncias ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Kohn & Liversede, 1944; Pyles et al., 1993). A concentração de malondialdeído foi calculada pelo coeficiente de absorvância molar ($\epsilon = 1,65 \times 10^6$) (J. A. BUEGE AND S. D. AUST, 1975). Os resultados foram expressos em nanomols de MDA por mg de proteína (MDA/PTN).

2.12.5. Óxido Nítrico (ON)

Para a análise de óxido nítrico, 50µl do homogeneizado foi misturado à solução A (1% de sulfanilamida em 3,5% de H₃PO₄) na razão 1:1 e incubada a 37,5°C no escuro por 10 minutos. A absorbância foi lida em espectrofotômetro (Multiskan GO®, Thermo Scientific) a 570nm. Os resultados foram expressos em µmol de ON/mg de proteína (GREEN e colab., 1982).

2.13. Perfil Bioquímico

O soro dos animais foi utilizado para determinar glicemia de jejum, função renal (ácido úrico, ureia, creatinina), função hepática (ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase) e inflamação (proteína C reativa ultrasensível). As amostras foram analisadas por métodos colorimétricos utilizando kits comerciais (Bioclin®, Belo Horizonte, Brazil) e conduzidas no analisador bioquímico BS-200 (Bioclin®).

2.14. Capacidade Antioxidante Total do plasma

A capacidade antioxidante total (TAC) foi determinada no soro utilizando kit específico de imunoenensaio enzimático (Sigma®) de acordo com instruções do fabricante. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Thermo Scientific® modelo Multiskan GO) a 405nm e a quantidade de antioxidantes foi padronizada com 50–100 µmol/L Trolox. Os resultados foram expressos em mM equivalentes de trolox.

2.15. Análise Estatística

Os dados do ensaio biológico foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Para anova *two-way*, o valor de p foi considerado para os efeitos dos fatores principais de forma isolada, sendo eles: exercício de força resistido e suplementação proteica, bem como para os efeitos provocados pela interação entre eles.

Os resultados estão apresentados em média seguida de desvio padrão. Todas as análises foram realizadas no software Graph Pad Prism versão 7.0.

3. RESULTADOS

3.1. Composição Química da barra alimentícia

Observou-se que a barra apresentou 44,9% de proteínas, 23% de lipídios e 9,47% de fibra alimentar total. Ao se analisar as recomendações diárias para um indivíduo de 80kg, uma porção de 83g foi capaz de ofertar 37% das necessidades diárias de proteína e de fibra alimentar, além de aproximadamente 18% do valor energético em uma dieta para 2000 kcal/dia. A barra também apresentou $0,37 \pm 0,02$ mg/gAE/g de compostos fenólicos e 1,56 mmol/TROLOX/g de antioxidantes (**Figura 3**).

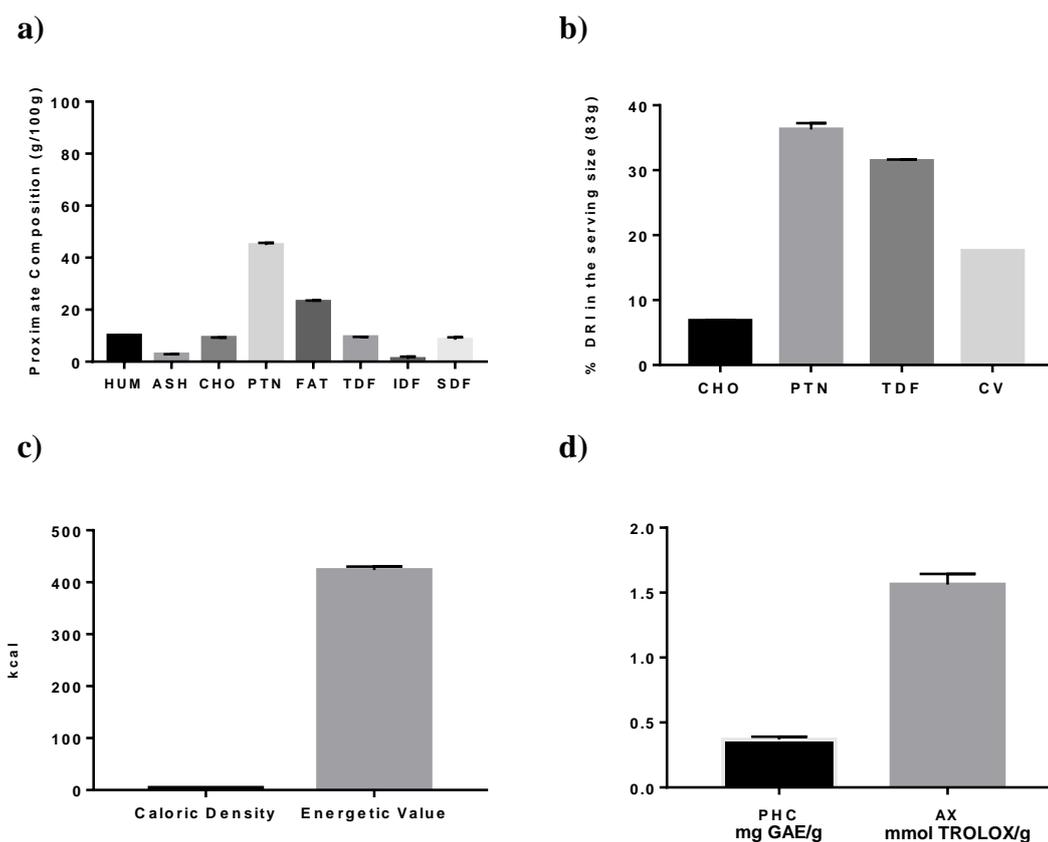


Figura 3. Composição química, % das DRI's, conteúdo energético, de fenólicos e antioxidantes da barra alimentícia com alto conteúdo de proteínas. (a) Composição química centesimal; (b) Percentual das Recomendações Nutricionais (DRI's) para um

homem jovem, desportista, 70kg, ofertado em uma porção (86g); (c) Valor energético e densidade calórica; (d) Compostos fenólicos e antioxidantes. HUM: umidade; ASH: cinzas; CHO: carboidratos; PTN: proteínas; FAT: lipídios; TDF: fibra alimentar total; IDF: fibra alimentar insolúvel; SDF: fibra alimentar solúvel; CV: valor energético diário; PHC: compostos fenólicos; AX: antioxidantes.

A análise do perfil de ácidos graxos (**Figura 4**) demonstrou que entre os ácidos graxos insaturados, o principal ácido graxo presente na barra alimentícia foi o ácido graxo oleico ($\omega 9$), além do ácido graxo linoleico ($\omega 6$), o ácido graxo linolênico ($\omega 3$) e o ácido graxo decosanoico. Entre os ácidos graxos saturados, foram identificados o ácido graxo palmítico, o ácido graxo octadecanoico e o ácido graxo araquidônico.

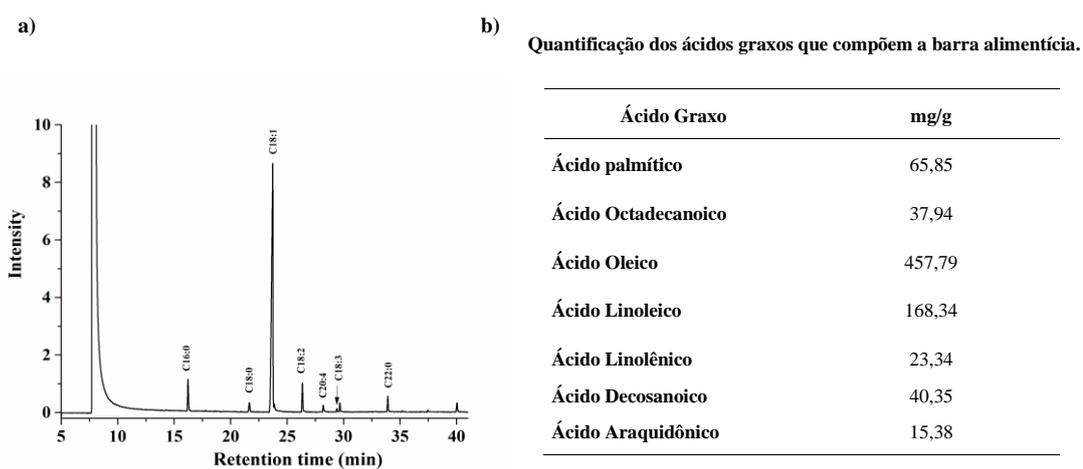


Figura 4. Análise do perfil e quantificação de ácidos graxos da barra alimentícia. (a) Cromatograma do perfil de ácidos graxos. (b) Quantificação dos ácidos graxos identificados na cromatografia.

3.2. Quantificação de leucina e isoleucina.

Ao considerar a oferta de 30% das necessidades proteicas para indivíduos fisicamente ativos (80kg), ofertando assim uma barra de 83g, a quantidade de leucina ofertada é de 2,4g/barra.

3.3. Efeito do consumo da barra e do treinamento físico na ingestão alimentar e biometria em Ratos *Wistar*

A ingestão da barra reduziu o consumo alimentar total do grupo dieta padrão + treinado + barra (TREP) quando comparado aos grupos sedentário + dieta padrão (SED) e treinado + dieta padrão (TRE) ($p < 0,05$). O consumo de barra pelo grupo sedentário + dieta padrão + barra (SEDP) não diferiu dos demais grupos experimentais (**Tabela 3**). A redução do consumo alimentar pelo grupo que consumiu a barra promoveu um consumo proteico (CP) semelhante entre os grupos experimentais. A oferta proteica da barra foi responsável por aproximadamente 19% do consumo proteico dos animais para os grupos experimentais que a receberam (albumina *versus* albumina + proteína da barra) e estes grupos apresentaram um maior consumo de lipídios (CL) ($p < 0,05$). O grupo dieta padrão + treinado + barra (TREP) apresentou menor coeficiente de eficiência proteico (PER) que os grupos sedentário + dieta padrão (SED) e sedentário + dieta padrão + barra (SEDP), e não diferiu do grupo treinado + dieta padrão (TRE) ($p < 0,05$). O coeficiente de eficiência alimentar não diferiu entre os grupos, exceto para o grupo sedentário alimentado com barra ($p < 0,05$). Os grupos treinados apresentaram menor coeficiente de eficiência energética (CEE) quando comparados aos sedentários.

Tabela 3. Ingestão alimentar e proteica, coeficiente de eficiência alimentar, proteica e energética dos animais experimentais.

Fator	Grupo	CAT	CATB	CP	%CPB	CL (g)	CEA	CEE	PER
Proteína da Barra	SED	1177,28± 139,08 ^a	-	161,52 ± 19,08 ^a	-	47,09 ± 5,56 ^a	9,72 ± 1,38 ^{ab}	0,03 ± 0,00 ^a	0,71 ± 0,09 ^a
	SEDP	1015,44±86,85 ^{ab}	70,30 ± 1,70 ^a	181,55 ± 11,95 ^a	18,46 ± 0,01 ^a	57,00 ± 3,54 ^b	10,37 ± 1,94 ^b	0,03 ± 0,00 ^a	0,66 ± 0,13 ^a
Exercício resistido	TRE	1140,04 ± 102,09 ^a	71,12 ± 1,63 ^a	156,41 ± 14,00 ^a	-	45,60 ± 4,08 ^a	8,01 ± 1,85 ^a	0,02 ± 0,00 ^b	0,58 ± 0,13 ^{ab}
	TREP	1024,06 ± 22,16 ^b	-	162,69 ± 6,41 ^a	19,62 ± 0,00 ^b	54,51 ± 1,90 ^b	8,18 ± 1,77 ^a	0,02 ± 0,00 ^b	0,52 ± 0,11 ^b

* Médias seguidas de letras iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste ANOVA *Two-way* seguida do teste *post hoc* de Newman Keuls a 5% de probabilidade. CAT: Consumo alimentar total; CATB: consumo alimentar total de barra; CP: Consumo Proteico; %CPB: Percentual do consumo proteico proveniente da barra; CL: Consumo de lipídios; CEA: Coeficiente de eficiência alimentar; CEE: Coeficiente de eficiência energética; PER: Coeficiente de eficiência proteica. SED: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M); SEDP: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M) + 30% de proteína proveniente da barra; TRE: animais treinados + dieta padrão; TREP: animais treinados + dieta padrão + 30% de proteína proveniente da barra.

O ganho de peso corporal (GP), o perímetro da cintura (PC), o índice de massa corporal (IMC), o índice de Lee (IL), bem como o peso do bíceps (PB) e o percentual de gordura corporal (%GC) não diferiram entre os grupos experimentais ($p > 0,05$) (**Tabela 4**).

Tabela 4. Medidas e índices biométricos dos animais experimentais.

Fator	Grupo	GP (g)	PC (cm)	IMC	IL	%GC	PB
Proteína da Barra	SED	114,80 ±22,75	17,15 ± 3,67	0,64 ± 0,04	4,96 ± 1,39	4,96 ± 1,39	0,30 ± 0,06
	SEDP	114,20 ±28,25	17,50 ± 1,03	0,63 ± 0,03	295,2 ± 6,30	4,00 ± 0,98	0,27 ± 0,03
Exercício resistido	TRE	92,43± 26,34	17,25 ± 0,86	0,63 ± 0,05	297,79 ± 8,52	4,41 ± 1,06	0,25 ± 0,00
	TREP	84,35± 20,56	16,50 ± 0,66	0,66 ± 0,05	303,98 ± 8,96	4,19 ± 0,85	0,25 ± 0,06

* médias diferem estatisticamente entre si pelo teste ANOVA Two-way seguida do teste *post hoc* de Newman Keuls a 5% de probabilidade. GP: Ganho de peso; PC: Perímetro da cintura; IMC: Índice de massa corporal; IL: Índice de Lee; %GC: Percentual de Gordura Corporal; PB: Peso do bíceps. SED: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M); SEDP: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M) + 30% de proteína proveniente da barra; TRE: animais treinados + dieta padrão; TREP: animais treinados + dieta padrão + 30% de proteína proveniente da barra.

3.4. Desempenho físico e hipertrofia muscular

A oferta proteica proveniente da barra aumentou ($p < 0,05$) o desempenho físico dos animais por meio do aumento da resistência à carga, consistindo no aumento da carga diferente ($p < 0,05$) do grupo treinado + dieta padrão (TRE) a cada teste. Quanto às proteínas relacionadas à hipertrofia muscular, o exercício, bem como a proteína da barra, foi capaz de aumentar a expressão gênica de AKT e reduzir a expressão gênica de GSK-3 β . A quantificação revelou que a concentração da proteína AKTp foi maior no grupo TREP quando comparado aos grupos sedentários, e que o consumo de barra proteica não resultou no aumento de da concentração proteica de AKTp entre os grupos treinado + dieta padrão (TRE) e treinado + dieta padrão + barra (TREP) (**Figura 5**).

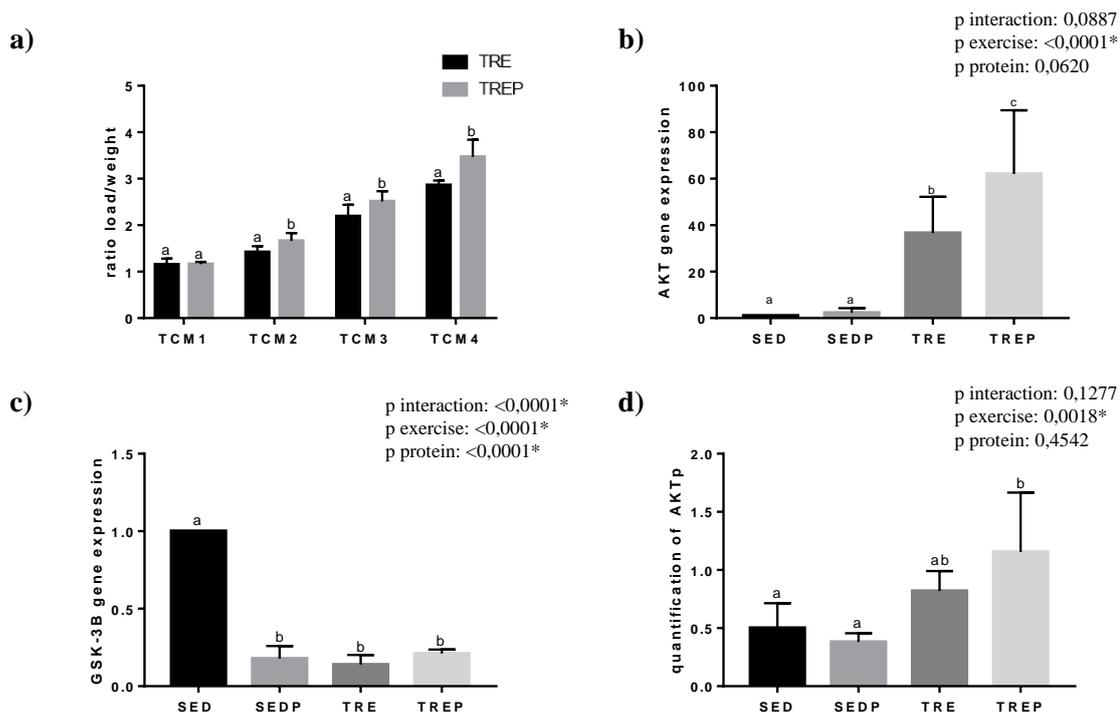


Figura 5. Efeito da oferta proteica proveniente da barra alimentícia no desempenho físico e marcadores de hipertrofia e atrofia. (a) testes de carga máxima (TCM – TCM 1- 1º teste de carga realizado no tempo 0; TCM 2- 2º teste de carga, realizado na semana 2; TCM 3 – 3º teste de carga, realizado na semana 4 e TCM 4- 4º teste de carga, realizado na semana 6); (b) expressão gênica de AKT; (c) expressão gênica de GSK-3β; (d) quantificação de AKT fosforilada em unidade arbitrária. Médias seguidas da mesma letra no mesmo gráfico não diferem entre si de acordo com *two-way* ANOVA e *post-hoc* de Newman Keuls a 5% de probabilidade. *p* interaction: interação entre 30% de suplementação proteica proveniente da barra associada ao exercício de força resistido; *p* exercise: influência exercida pelo exercício; *p* protein: influência exercida pelo consumo de barra de proteína. SED: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M); SEDP: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M) + 30% de proteína proveniente da barra; TRE: animais treinados + dieta padrão; TREP: animais treinados + dieta padrão + 30% de proteína proveniente da barra. N= 5/grupo.

Os resultados histológicos (**Figura 6**) mostram que a oferta proteica proveniente da barra não foi capaz de aumentar a área de secção transversa das fibras musculares. No entanto, o exercício resistido, quando analisado isoladamente como fator principal, induziu o aumento desta. Além disso, a interação entre exercício resistido e suplementação proteica proveniente da barra não exerceu efeito sobre o número de fibras musculares, núcleos, matriz extracelular ou infiltrado inflamatório. As áreas circundadas nas fotos histológicas ilustram regiões com infiltrados inflamatórios dos grupos sedentário + dieta padrão + barra (SEDP) e treinado + dieta padrão + barra (TREP), e as

setas demonstram a área de secção transversa de fibras musculares do bíceps dos animais. No entanto, quando consideramos isoladamente a oferta proteica proveniente da barra, esta exerceu efeito sobre as fibras musculares e a matriz extracelular, aumentando o percentual de fibras e diminuindo o percentual de matriz extracelular.

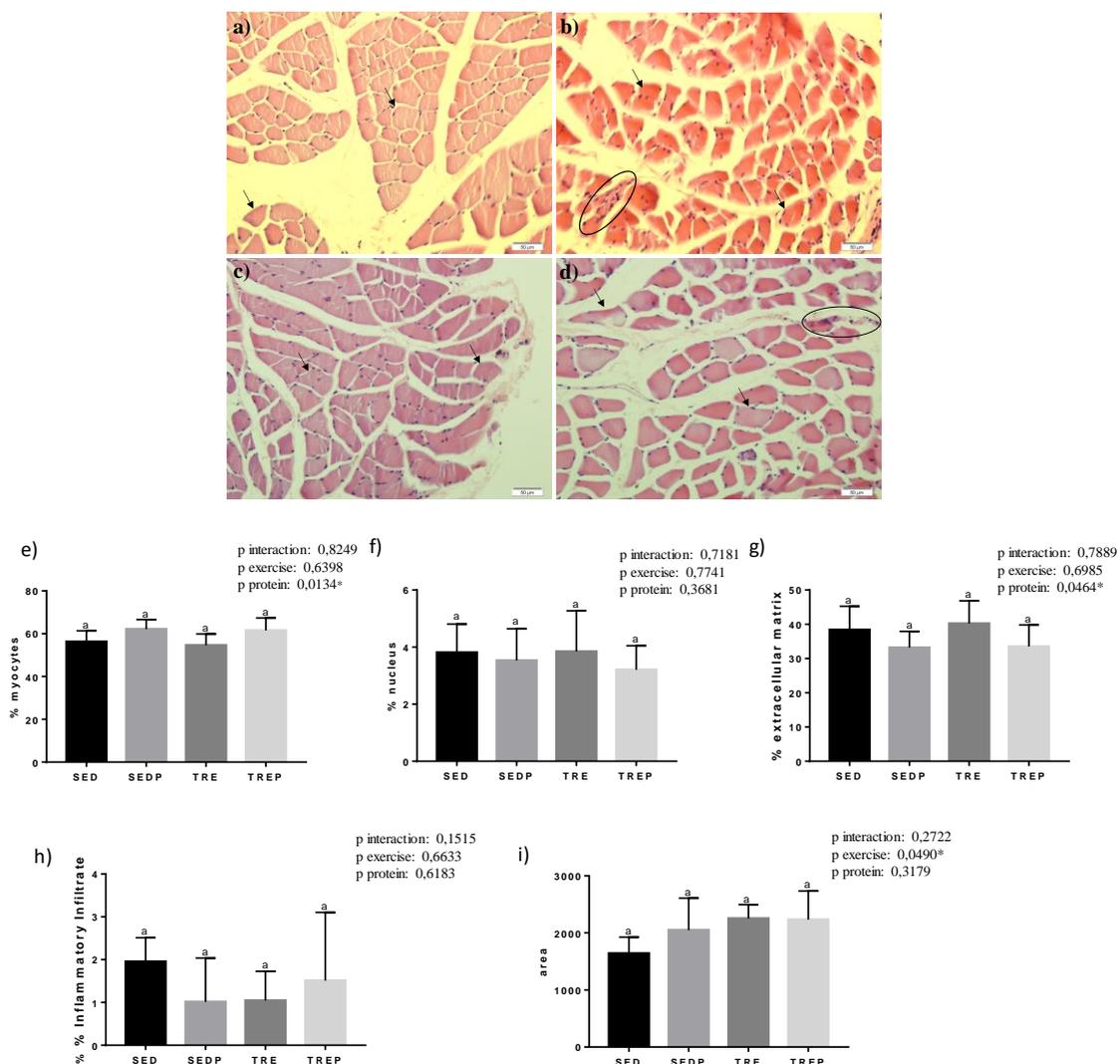


Figura 6. Análise histológica do bíceps dos grupos experimentais. (a) Corte histológico do grupo SED; (b) Corte histológico do grupo SEDP; (c) Corte histológico do grupo TRE; (d) Corte histológico do grupo TREP; (e) percentual de miócitos; (f) percentual de núcleos; (g) percentual de matriz extracelular; (h) percentual de infiltrado inflamatório; (i) área de secção transversa das fibras musculares. Médias seguidas da mesma letra no mesmo gráfico não diferem entre si de acordo com *two-way* ANOVA e *post-hoc* de Newman Keuls a 5% de probabilidade. *p* interaction: interação entre 30% de suplementação proteica proveniente da barra associada ao exercício de força resistido; *p* exercise: influência exercida pelo exercício; *p* protein: influência exercida pelo consumo de barra de proteína. SED: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M); SEDP: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M) + 30% de proteína proveniente da barra; TRE: animais treinados + dieta padrão; TREP: animais treinados + dieta padrão + 30% de proteína proveniente da barra.

As setas na histologia apontam a área de secção transversa muscular e os miócitos. A área circundada nas fotos histológicas delimita regiões com infiltrados inflamatórios.

3.4. Efeito do consumo da barra e do treinamento físico nos marcadores bioquímicos, hepáticos e renais de ratos *Wistar*

A oferta proteica proveniente da barra não alterou glicemia, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), creatinina, ureia e ácido úrico nos grupos experimentais. Segundo a análise de variância de dois fatores, ao considerar a interação entre exercício resistido e oferta proteica, houve alteração do hemograma dos animais (hemoglobina e hematócrito). No entanto, essa diferença não resultou em alteração ($p>0,05$) nas células vermelhas dos animais (**Tabela 5**).

Tabela 5- Marcadores bioquímicos dos animais experimentais.

Marcador	Grupo Experimental				
	SED	SEDP	TRE	TREP	p
Hemácias (célulasx10 ⁶ / mm ³)	7,83±0,21 ^a	7,55±0,09 ^a	7,89±0,27 ^a	7,61±0,41 ^a	p interação 0,9941 p proteína 0,0203 p exercício 0,5991
Hemoglobina (g/dL)	14,32±0,43 ^a	14,52±0,56 ^a	14,73±0,38 ^a	13,78±0,48 ^a	p interação 0,0066 p proteína 0,0620 p exercício 0,4138
Hematócrito (%)	40,07±0,97 ^a	40,75±1,41 ^a	41,4±1,33 ^a	39,33±0,96 ^a	p interação 0,0101 p proteína 0,16885 p exercício 0,9323
Leucócitos totais (células/mm ³)	3266,67±725,81 ^a	3566,67±307,68 ^a	3300,00±635,61 ^a	3750±1871,63 ^a	p interação 0,8647 p proteína 0,3982 p exercício 0,8056
Glicose de jejum (mg/dL)	202,88±21,44 ^a	200,38±3,84 ^a	215,63±22,03 ^a	193,00±10,81 ^a	p interação 0,2358 p proteína 0,1416 p exercício 0,7486
Ácido Úrico (mg/dL)	0,79±0,47 ^a	0,44±0,20 ^a	0,55±0,22 ^a	0,53±0,41 ^a	p interação 0,1967 p proteína 0,1383 p exercício 0,5466
Creatinina (mg/dL)	0,62±0,02 ^a	0,60±0,03 ^a	0,60±0,04 ^a	0,57±0,05 ^a	p interação 0,8297 p proteína 0,1194 p exercício 0,0859
Ureia (mg/dL)	34,75±6,78 ^a	35,13±6,38 ^a	33,63±4,95 ^a	35,13±5,80 ^a	p interação 0,7933 p proteína 0,6627 p exercício 0,7933
AST (U/L)	152,50±64,66 ^a	152,50±29,52 ^a	139,50±37,23 ^a	131,75±53,72 ^a	p interação 0,3420 p proteína 0,1665 p exercício 0,8390
ALT (U/L)	25,38 ±5,85 ^a	21,50±3,93	25,00±10,99 ^a	21,88±4,39 ^a	p interação .8786 p proteína 0,1615 p exercício >0,99
PCR-US (mg/L)	<0,1 ^a	<0,1 ^a	<0,1 ^a	<0,1 ^a	-

* Médias seguidas de letras iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste ANOVA *Two-way* seguida do teste *post hoc* de Newman Keuls a 5% de probabilidade. AST: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; PCR-US: proteína C reativa ultrasensível. SED: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M); SEDP: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M) + 30% de proteína proveniente da barra; TRE: animais treinados + dieta padrão treinado que recebeu apenas dieta padrão; TREP: animais treinados + dieta padrão + 30% de proteína proveniente da barra.

3.5. Estresse oxidativo e capacidade antioxidante total

A capacidade antioxidante total sérica e os marcadores de estresse oxidativo (superóxido dismutase, óxido nítrico, malondialdeído e capacidade antioxidante total) muscular não diferiram entre os grupos experimentais ($p > 0,05$) (**Figura 7**).

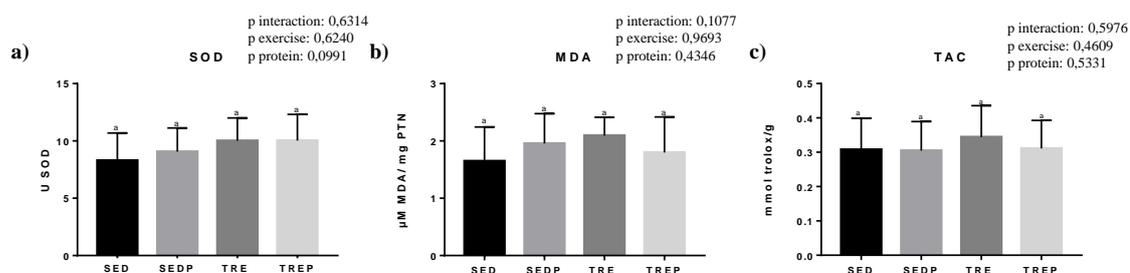


Figura 7. Marcadores de estresse oxidativo e capacidade antioxidante total do plasma. (a) Superóxido Dismutase (SOD); (b) Malondialdeído (MDA); (c) Capacidade antioxidante total sérica. Médias seguidas da mesma letra no mesmo gráfico não diferem entre si de acordo com *two-way* ANOVA e *post-hoc* de Newman Keuls a 5% de probabilidade. *p* interaction: interação entre 30% de suplementação proteica proveniente da barra associada ao exercício de força resistido; *p* exercise: influência exercida pelo exercício; *p* protein: influência exercida pelo consumo de barra de proteína. SED: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M); SEDP: animais sedentários + dieta padrão (AIN-93M) + 30% de proteína proveniente da barra; TRE: animais treinados + dieta padrão; TREP: animais treinados + dieta padrão + 30% de proteína proveniente da barra.

4. DISCUSSÃO

O uso de amendoim e soja como base da formulação agregaram valor nutricional ao produto, em especial ao conteúdo de proteínas, fibra alimentar e ao perfil de lipídios (LOZANO, 2016). A oferta proteica proveniente de uma barra alimentícia com alegações nutricionais aliada à prática de exercício resistido foi capaz de reduzir o consumo alimentar, melhorar o desempenho físico e manter o equilíbrio metabólico de ratos *Wistar* submetidos ou não ao exercício de força resistido.

O perfil de lipídios da barra desenvolvida apresentou ácidos graxos insaturados, como os da família ômega: 9, 6, 3, que exercem efeitos benéficos à saúde. Além disso, a análise de composição centesimal demonstrou um produto com conteúdo

de proteínas superior aos normalmente comercializados. Nesse contexto, desenvolvemos um produto com perfil lipídico desejável, com elevado conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados. O perfil de ácidos graxos também demonstrou o potencial do produto na proteção aos danos causados por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, auxiliando no equilíbrio REDOX e reduzindo o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (Bloomer et al 2009; McAnulty et al, 2010; Campos et al, 2015; Boit et al, 201).

De acordo com a RDC nº 54 de 2012 da ANVISA, o rótulo desta nova formulação de barra pode conter o termo “sem adição de açúcares”, “alto conteúdo de proteínas” e “alto conteúdo de fibras” junto às informações nutricionais complementares, as frases “contém açúcares próprios dos ingredientes” e “este não é um alimento baixo ou reduzido em valor energético”. Essa barra alimentícia também pode ser considerada um produto fonte de ω 3, oferecendo 446 mg do ácido graxo/83g, bem como alegações de alto conteúdo de ω 6, oferecendo 3217mg/83g e alto conteúdo de ω 9, tendo pelo menos 45% dos ácidos graxos totais do produto, o ácido graxo oleico. Também apresenta a alegação “alto conteúdo de proteínas”, por conter 38,1g de proteína/83g (1 porção). Diante disso, é capaz de promover o aumento da ingestão de proteínas em indivíduos de diferentes tipos de atividade física. A recomendação proteica é de 1,6 a 1,7g/kg de peso/dia para indivíduos que praticam exercícios de força e 1,2 a 1,6g/kg de peso/dia para os esportes em que se exige resistência aeróbica (BRASIL/RDC nº 269, 2005). De acordo com dados disponíveis na literatura sobre o perfil de aminoácidos dos ingredientes utilizados no preparo da barra, a quantidade desta, ofertada para os animais, quando convertidas g/kg para humanos, oferece entre 2-3g de leucina, A International Society of Sports Nutrition (2017), preconiza que a ingestão de 1 a 3 g de leucina/dia é capaz de estimular a síntese proteica muscular.

A adição de barra à dieta padrão de ratos *Wistar*, dos grupos sedentário e treinado garantiu um aporte de 19% do consumo proteico proveniente da barra, e o consumo da barra permitiu concomitantemente um aporte dietético de 29% dos lipídios e 12% de fibra alimentar, sendo as fibras solúveis 1,31% da dieta. A barra alimentícia promoveu menor consumo alimentar no grupo treinado que a consumiu. No entanto, não alterou medidas biométricas e nem os coeficientes de eficiência alimentar (CEA), energética (CEE) e proteica (PER) em relação ao grupo treinado.

Embora o cálculo de preparo da dieta para os animais tenha sido baseado na oferta proteica proveniente da barra, a redução no consumo alimentar de dieta levou ao aumento do consumo de lipídios pelos animais alimentados com a barra. Esse aumento se deve ao conteúdo de lipídios da barra proteica (23% de lipídios) e a redução do consumo de dieta (4% de lipídios de óleo de soja). O consumo de uma dieta acrescida de proteínas, lipídios, em especial ácidos graxos mono e poliinsaturados, bem com o consumo de fibra alimentar podem induzir a produção de peptídeos intestinais relacionados à saciedade (Graaf, et al, 2004); Witcamp et al., 2018; Sun et al, 2019), como glucagon 1 (GLP-1) e o peptídeo YY (PYY), que podem promover maior sensação de saciedade, levando ao menor consumo alimentar dos animais. O ácido graxo oleico, ácido graxo em maior quantidade presente na barra está relacionado com o aumento da secreção do peptídeo inibidor gástrico, e o consumo de ácidos graxo poli-insaturados está relacionado ao aumento da resposta do peptídeo YY (Latif et al, 2013; Kaviani et al, 2017). Além disso, os ingredientes utilizados na formulação conferem ao produto proteínas com alto valor biológico (Da Silva et al 2010, Paul et al, 2012), levando a uma melhor absorção de aminoácidos, possivelmente auxiliando no controle da saciedade.

Os resultados dos testes de carga e histológicos demonstram que a oferta proteica proveniente da barra foi capaz de melhorar o desempenho físico dos animais, os

quais apresentaram maior percentual de miócitos e menor percentual de matriz extracelular. A resposta apresentada pelo grupo treinado alimentado com a barra, justifica-se devido ao estímulo à taxa de síntese proteica muscular, como proposto por Nelson et al (2012), em que a oferta proteica aumentou as taxas de síntese proteica miofibrilares. A variedade de soja UFVTN105, com alto conteúdo de proteínas e estas de alto valor biológico (Da Silva et al 2010; Paul et al, 2012), foi utilizada em 14,4% para o preparo da barra. Seus principais aminoácidos essenciais são os de cadeia ramificada (BCAA), como leucina (7,75%), isoleucina (4,23%) e valina (4,07%) (Moraes et al, 2006). A oferta desses aminoácidos na barra em consonância com o aporte proteico proveniente da dieta padrão aliada ao exercício físico, pode ter auxiliado na indução da hipertrofia muscular. Autores que investigaram o efeito da suplementação proteica proveniente de caseína, proteína do soro do leite e soja e peptídeos de colágeno observaram efeitos positivos da oferta proteica após a prática de atividade física, como aumento da expressão de proteínas das vias de hipertrofia muscular, diminuição da expressão de proteínas das vias de catabolismo muscular, aumento da biogênese mitocondrial, bem como aumento do número e tipos de fibras musculares, além do aumento da área de secção transversa do músculo (Pennings et al., 2011; Res et al., 2012; Ayoama et al., 2019; Oertzen-Hagemann et al., 2019).

A análise histológica demonstrou que a oferta proteica proveniente da barra, quando analisada de forma isolada como fator principal, embora não tenha resultado em diferenças no consumo proteico entre os grupos experimentais, exerceu influência sobre a síntese proteica muscular. De forma semelhante, Reidy e colaboradores (2017) suplementaram diferentes tipos de proteína em homens jovens e observaram hipertrofia muscular e aumento da área transversal específica das miofibrilas do vasto lateral.

O aumento da expressão gênica de AKT, marcador de hipertrofia, aliado à redução da expressão de GSK-3 β , marcador de atrofia muscular, demonstraram o efeito da oferta proteica proveniente da barra, bem como o do exercício físico no aumento da síntese proteica muscular. A AKT é a primeira proteína na via de sinalização IGF1-PI3K-AKT, via relacionada à hipertrofia muscular em resposta ao treinamento. Além disso, AKTp é reguladora de GSK-3 β inibindo sua ação (Weeks et al., 2017).

No entanto, ao se quantificar AKTp, o grupo treinado + dieta padrão (TRE) não diferiu dos grupos sedentários, bem como do grupo treinado alimentado com a barra proteica. Isso pode estar relacionado a diferentes fatores, como o consumo proteico semelhante entre os grupos, a via de sinalização relacionada a hipertrofia muscular e ao tempo após exercício que a análise foi realizada e o tempo de meia vida da proteína fosforilada. Rahbek et al. (2014) quantificaram AKTp em diferentes tempos após o treino (1, 3 e 5h), e no último tempo avaliado não observaram diferenças entre os grupos experimentais analisados, corroborando com nossos resultados. Takegaki et al., (2017) também relacionam o tempo pós exercício de forma inversamente proporcional à quantificação de AKTp, em camundongos submetidos ao exercício resistido induzido por estímulos elétricos quando comparados ao grupo sedentário. Outra explicação possível é que a oferta proteica proveniente da barra aumente as taxas de síntese muscular de duas formas: miofibrilar e mitocondrial (NELSON e colab., 2012). Embora a oferta proteica não tenha resultado isoladamente na diferença de AKTp, resultou em diferenças na expressão gênica dos marcadores de hipertrofia, conforme descrito por Weeks et al., (2017).

Quanto aos marcadores hematopoiéticos e de função renal, os valores encontram-se dentro dos padrões de referência propostos por Melo et al., (2012), esse resultado é suportado pelo estudo de El-Shobaki et al., (2018), em que os autores

ofertaram barras 26g de proteínas provenientes da proteína do soro do leite para homens adultos jovens, e não observaram danos ao metabolismo hepática e renal relacionados à oferta proteica. A concentração da enzima hepática alanina aminotransferase (ALT) apresentou-se abaixo do valor recomendado para todos os grupos experimentais. O mesmo resultado foi apresentado ao se analisar ácido úrico (MELO e colab., 2012). Desta forma, a oferta proteica proveniente da barra, bem como a prática do exercício de resistido não causaram alterações hematológicas, hepáticas e, ou renais nos animais, mantendo, assim, o equilíbrio metabólico dos ratos adultos submetidos a exercício resistido.

A série leucocitária apresentou-se dentro da normalidade para todos os grupos e os níveis de enzimas e marcadores antioxidantes não diferiram entre os grupos experimentais. A oferta proteica proveniente da barra em nosso estudo não alterou os níveis de malondialdeído, corroborando com o resultado obtido por Moreno-Pérez et al., (2018) em pesquisa com humanos desportistas. Embora o exercício de alta intensidade possa causar supressão do sistema imunológico e aumento do estresse oxidativo, a prática de atividade física regular, induz o organismo a criar mecanismos de adaptação, chamados de hormeses, tornando-se capaz de reagir as EROs e ERNs gerados pelo exercício, minimizando seus efeitos (PETERNELJ e COOMBES, 2011). O tempo de recuperação adequado associado às condições moleculares no músculo perante o exercício pode estabilizar o comportamento das enzimas antioxidantes no organismo e possibilitar a recuperação do organismo, como observado em nosso estudo e em consonância com outras pesquisas (KAWAMURA e MURAOKA, 2018; POWERS e JACKSON, 2008; TAKEGAKI e colab., 2017). Raizel et al., (2018) demonstraram outra via de controle, que o mecanismo de hormeses promove o equilíbrio das chaperonas. Esse mecanismo leva à ativação de NF-kB, capaz de reduzir o conteúdo intracelular de HSP70, liberando-a no meio extracelular. Nesse meio, a HSP70 pode agir na redução do estresse

oxidativo, combatendo EROs e ERNs. Nesse contexto, a oferta proteica mantém os níveis de marcadores de estresse oxidativo, como observado em nosso estudo.

Entre as limitações deste estudo, podemos citar a oferta de dieta *ad libitum* para os animais, resultando em uma substituição proteica da dieta. Isso aconteceu pois o consumo alimentar dos animais reduziu ao consumirem a barra com alto conteúdo de proteínas, de modo que não houve suplementação proteica. Sugerimos então que estudos posteriores controlem a ingestão alimentar dos animais a fim de garantir a suplementação proteica e seus efeitos associados à prática de exercício de resistido, permitindo também estudos que controlem a perda de gordura. O consumo da barra alimentícia também pode ser adotado como estratégia em estudos que trabalhem com dietas com restrições calóricas, visto que propiciou uma menor ingestão alimentar.

5. CONCLUSÃO

A barra desenvolvida apresentou alegações nutricionais como alto conteúdo de proteínas, lipídios insaturados e fibra alimentar, além do baixo teor de açúcar. O consumo da barra substituindo 20% da proteína na dieta de ratos praticantes de exercício de força resistido reduz a ingestão alimentar, melhora o desempenho físico, induz hipertrofia muscular, mantém a função hematopoiética, hepática e renal e o metabolismo oxidativo em ratos *Wistar* submetidos ao exercício resistido. Deste modo, a utilização da barra desenvolvida pode ser uma estratégia eficaz para promover o ganho de massa muscular e melhora do desempenho físico de praticantes de exercício resistido.

AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

American Egg Board. Chicago, IL. 2019.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International.** 19th ed. Gaithersburg, Md. AOAC, 2012.

BAÚ, Tahis Regina e ANTÔNIO, Mário e CELLA, Sibila Mariana. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial BARRA ALIMENTÍCIA COM ELEVADO VALOR PROTEÍCO : FORMULAÇÃO , CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO SENSORIAL HIGH PROTEIN BAR : FORMULATION , CHARACTERIZATION AND SENSORIAL EVALUATION.** p. 42–51, 2010.

BOSQUESI, Rafael e CAMISA, Jaqueline e DOS SANTOS, Fernando. **Avaliação dos teores de proteínas e lipídios em barras protéicas.** Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, v. 10, n. 55, p. 24–30, 2016.

BRASIL. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2012. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0054_12_11_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864>.

CANADA, Dietitians O F. **APA, 1994a American Psychiatric Association (APA) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4.th ed. [DSM-IV]).**

Washington, D.C: American Psychiatric Association; 1994. Nutrition and Athletic Performance, p. 709–731, 2009. Disponível em:

<www.eatright.org/cps/rde/xchg/ada/hs.xsl/%0Ahttps://psicovalero.files.wordpress.com/2014/06/manual-diagn3b3stico-y-estadc3adstico-de-los-trastornos-mentales-dsm-

iv.pdf>.

COFFEY, Vernon G e HAWLEY, John A. **Art:10.2165/00007256-200737090-00001.**

v. 37, n. 9, p. 737–763, 2007.

COQUEIRO, Audrey Yule e colab. **Effects of glutamine and alanine supplementation on central fatigue markers in rats submitted to resistance training.** *Nutrients*, v. 10, n. 2, 2018.

DE MORAES, Rita Maria Alves e colab. **Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. (In Portuguese, with English abstract.)**. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 41, n. 1, p. 725–729, 2006.

EL-SHOBAKI, Fawzi Amin e colab. **Whey protein bar supplementation effects combined with resistance training on athletes.** *Journal of Biological Sciences*, v. 18, n. 8, p. 506–513, 2018.

FARIA, Wanessa Costa Silva e colab. **Novel soybean-based high protein bar rich in isoflavones improves insulin sensitivity in diabetic Wistar rats.** *Journal of Food Science and Technology*, v. 55, n. 1, p. 21–32, 2018.

FREITAS, Jullyana Borges e NAVES, Maria Margareth Veloso. **Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde.** *Revista de Nutricao*, v. 23, n. 2, p. 269–279, 2010.

GRANCIERI, Mariana e MARTINO, Hercia Stampini Duarte e GONZALEZ DE MEJIA, Elvira. **Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) as a Source of Proteins and Bioactive Peptides with Health Benefits: A Review.** *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 18, n. 2, p. 480–499, 2019.

GREEN, Laura C. e colab. **Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids.** *Analytical Biochemistry*, v. 126, n. 1, p. 131–138, 1982.

GRUBIC, Tyler J. e colab. **Comparison of ingesting a food bar containing whey**

protein and isomalto-oligosaccharides to carbohydrate on performance and recovery from an acute bout of resistance-exercise and sprint conditioning: An open label, randomized, counterbalanced, crossover pilot study. Journal of the International Society of Sports Nutrition, v. 16, n. 1, p. 1–17, 2019.

GUTKOSKI, Luiz Carlos e colab. **Development of oat based cereal bars with high dietary fiber content.** v. 27, n. 2, p. 355–363, 2007.

HORNBERGER, Troy A. e FARRAR, Roger P. **Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat.** Canadian Journal of Applied Physiology, v. 29, n. 1, p. 16–31, 2004.

INDRIO, Flavia e colab. **Eur J Public Health-2008-de Sa-558-68.pdf.** Good Nutrition: Perspectives for the 21st Century, v. 29, n. 4, p. 31–44, 2016. Disponível em: <<http://advances.nutrition.org/lookup/doi/10.3945/an.115.011015%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.02.072>>.

J. A. BUEGE AND S. D. AUST. **Microsomal lipid peroxidation,” Methods in Enzymology.** Journal of Physics: Conference Series, v. 71, n. May, p. 012004, 1975. Disponível em: <<http://stacks.iop.org/1742-6596/71/i=1/a=012004?key=crossref.9538450afe63dad1c84f8f585373a48b>>.

KALMAN, Douglas. **Amino Acid Composition of an Organic Brown Rice Protein Concentrate and Isolate Compared to Soy and Whey Concentrates and Isolates.** Foods, v. 3, n. 3, p. 394–402, 2014.

KAWAMURA, Takuji e MURAOKA, Isao. **Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint.** Antioxidants, v. 7, n. 9, 2018.

LEE, Jiyoun e colab. **C1-Ten is a PTPase of nephrin, regulating podocyte hypertrophy through mTORC1 activation.** Scientific Reports, v. 7, n. 1, p. 1–13,

2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-12382-8>>.

LOZANO, Mariana Gonçalves. **Amendoim (*Arachis hypogaea* L.): composição centesimal, ácidos graxos, fatores antinutricionais e minerais em cultivares produzidas no Estado de São Paulo**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, p. 87, 2016.

MARCHESATO, Filipe de Souza Del e SOUZA, Elton Bicalho De. **Recomendações de Macronutrientes para ciclistas: Uma revisão bibliográfica**. Cadernos UniFOA, v. 6, n. 1, p. 61–67, 2017.

MELO, M.G.D. e colab. **Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe**. Scientia plena, v. 8, n. 4, p. 1–6, 2012. Disponível em: <<http://www.scientiaplena.org.br/ojs/index.php/sp/article/view/295>>.

MIR, Maliheh e GHOREISHI, Seyyed M. **Response surface optimization of biodiesel production via catalytic transesterification of fatty acids**. Chemical Engineering and Technology, v. 38, n. 5, p. 835–834, 2015.

MORENO-PÉREZ, Diego e colab. **Effect of a protein supplement on the gut microbiota of endurance athletes: A randomized, controlled, double-blind pilot study**. Nutrients, v. 10, n. 3, p. 1–16, 2018.

MORTON, Robert W. e colab. **A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults**. British journal of sports medicine, v. 52, n. 6, p. 376–384, 2018.

NELSON, Andre R. e colab. **A protein-leucine supplement increases branched-chain amino acid and nitrogen turnover but not performance**. Medicine and Science in Sports and Exercise, v. 44, n. 1, p. 57–68, 2012.

OLIVEIRA-ALVES, Sheila Cristina e colab. **Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil.** Food Chemistry, v. 232, p. 295–305, 2017. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.002>>.

PETERNELJ, Tina Tinkara e COOMBES, Jeff S. **Antioxidant supplementation during exercise training: Beneficial or detrimental?** Sports Medicine, v. 41, n. 12, p. 1043–1069, 2011.

PHILP, Andrew e colab. **Sirtuin 1 (SIRT1) deacetylase activity is not required for mitochondrial biogenesis or peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α (PGC-1 α) deacetylation following endurance exercise.** Journal of Biological Chemistry, v. 286, n. 35, p. 30561–30570, 2011.

POWERS, Scott K. e JACKSON, Malcolm J. **Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production.** Physiological Reviews, v. 88, n. 4, p. 1243–1276, 2008.

RAHBEEK, Stine Klejs e colab. **Effects of divergent resistance exercise contraction mode and dietary supplementation type on anabolic signalling, muscle protein synthesis and muscle hypertrophy.** Amino Acids, v. 46, n. 10, p. 2377–2392, 2014.

RAIZEL, Raquel e colab. **Citoproteção e inflamação: efeitos da suplementação com glutamina e alanina sobre a lesão muscular induzida pelo exercício resistido.** Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, v. 12, n. 69, p. 109–115, 2018.

REEVES, P. G. e NIELSEN, F. H. e FAHEY, G. C. **AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet.** Journal of Nutrition, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 1993.

SCHOENFELD, Brad J. e OGBORN, Dan e KRIEGER, James W. **Dose-response**

relationship between weekly resistance training volume and increases in muscle mass: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Sports Sciences*, v. 35, n. 11, p. 1073–1082, 2017.

SINGLETON, V. L. e ORTHOFER, R. e LAMUELA-RAVENTOS, R. M. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent.** *Methods in enzymology*, v. 299, p. 152–178, 1999.

SPARKMAN, Kristen e JOYNER, Helen S. e SMITH, Brennan. **Understanding How High-Protein Bar Formulations Impact Their Mechanical and Wear Behaviors Using Response Surface Analysis.** *Journal of Food Science*, v. 84, n. 8, p. 2209–2221, 2019.

TAKAMURA, Yusuke e colab. **Effects of aerobic exercise combined with panaxatriol derived from ginseng on insulin resistance and skeletal muscle mass in type 2 diabetic mice.** *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, v. 63, n. 5, p. 339–348, 2017.

TAKEGAKI, Junya e colab. **Repeated bouts of resistance exercise with short recovery periods activates mTOR signaling, but not protein synthesis, in mouse skeletal muscle.** *Physiological Reports*, v. 5, n. 22, p. 1–10, 2017.

TIPTON, Kevin D. et al. Timing of amino acid-carbohydrate ingestion alters anabolic response of muscle to resistance exercise. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 281, n. 2, p. E197-E206, 2001.

WEEKS, Kate L e colab. **Exercise for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment.** The book provides an intensive overview on exercise for cardiovascular disease prevention and treatment, from basic research to clinical practice. The volume firstly summarizes the acute and chronic response to exercise. Secondly, evidence for exercise as, v. 1000, p. 187–210, 2017. Disponível em:

<<http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-4304-8>>.

ZIEGLER, Fabiane La Flor; SGARBIERI, Valdemiro Carlos. Caracterização químico-nutricional de um isolado proteico de soro de leite, um hidrolisado de colágeno bovino e misturas dos dois produtos. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 61-70, 2009.

6. CONCLUSÕES GERAIS

As análises de composição química e centesimal demonstram que se trata de um produto com alegações nutricionais, como: alto conteúdo de proteínas (44,9%) e fibra alimentar (9,2%), sem adição de açúcares e “este não é um produto reduzido em calorias”, devido à sua densidade energética. Além disso, trata-se de um produto com um conteúdo considerável de lipídios (23%) e seu perfil de ácidos graxos foi composto por 45,78% do ácido graxo monoinsaturado oleico, para os ácidos graxos poli-insaturados, apresentou 16,83% de ácido graxo linoleico, 2,33% de ácido graxo linolênico e 1,58% de ácido graxo araquidônico. Quanto aos ácidos graxos saturados, a barra apresentou 6,58% de ácido graxo palmítico, 4,03% de ácido graxo decosanoico e 3,97% de ácido graxo octadecanoico.

O conteúdo de lipídios da barra desenvolvida também garante como alegações para o produto: alto conteúdo de ácido graxo linoleico ($\omega 6$) e alto conteúdo de ácido graxo oleico ($\omega 9$), bem como a alegação de fonte de ácido graxo linolênico ($\omega 3$). Essas alegações são possíveis tendo em vista que uma barra de 83g é capaz de prover 3217mg e 446,14mg/83g de barra, além de ter pelo menos 45% dos percentuais de ácidos graxos, o ácido graxo oleico.

Ao avaliar o efeito da oferta proteica proveniente da barra *in vivo*, observou-se que não houveram diferenças entre os grupos experimentais, exceto para o grupo treinado alimentado com barra alimentícia. O consumo proteico não diferiu entre os grupos experimentais, de forma que a suplementação proteica não aconteceu. O coeficiente de eficiência proteica não diferiu entre os grupos, exceto para o treinado alimentado com a barra. O consumo da barra não alterou o coeficiente de eficiência alimentar e o coeficiente de eficiência energética entre os grupos, exceto para os grupos treinados. Além disso, a oferta proteica proveniente da barra não provocou alterações em marcadores hematopoiéticos (hemáceas, hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais), de função renal (ureia, creatinina e ácido úrico) e hepática (alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase).

A oferta proteica proveniente da barra manteve a capacidade antioxidante total do plasma e os níveis da enzima superóxido dismutase (SOD) e de marcadores relacionados ao estresse oxidativo, como o malondialdeído (MDA) e o óxido nítrico (ON) nos grupos experimentais.

O consumo da barra também melhorou o desempenho físico dos animais segundo a relação carga/peso em todos os testes de carga. Quanto aos resultados histológicos, a suplementação proteica, embora tenha exercido influência nos miócitos e na matriz extracelular, não foi capaz de melhorar de forma isolada os resultados atingidos com o exercício. Não houveram diferenças para o número de núcleos celulares e infiltrados inflamatórios, bem como para a área de secção transversa das fibras musculares.

A oferta da barra proteica foi capaz de aumentar a expressão gênica da proteína quinase B (AKT) e da glicogênio sintase 3 β (GSK-3 β), no entanto não foi capaz de aumentar a atividade de AKT fosforilada (AKTp), marcadores relacionados à hipertrofia muscular. Nesse sentido, o consumo da barra com alto conteúdo de proteínas pode se tornar uma estratégia para auxiliar no desempenho físico de desportistas.

Nesse sentido, sugerimos estudos posteriores que controlem a ingestão alimentar dos animais a fim de garantir a suplementação proteica e seus efeitos associados à prática de exercício de resistido. A oferta dessa barra pode ser adotada como estratégia em estudos voltados para o emagrecimento, visto que está relacionado a uma menor ingestão alimentar e possui uma composição nutricional satisfatória.

7. ANEXOS

Anexo 1- Aceite Comitê de ética no uso de animais - CEUA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
PRÓ REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA
Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-900- Telefone: (31) 3899-3783

Viçosa, 21 de fevereiro de 2019

Ilma. Prof.^a
Hércia Stampini Duarte Martino
Coordenadora do projeto
DNS/UFV

Sr. ^a Coordenadora,

Após avaliação da Metodologia utilizada no Projeto de Pesquisa intitulado “**Efeito do consumo de barra alimentícia desenvolvida com alto conteúdo de proteínas e antioxidantes no estresse oxidativo, inflamação e desempenho físico em ratos *Wistar* treinados e não treinados**”, aqui nomeado Processo 87/2018, a CEUA/UFV emite parecer favorável ao protocolo de utilização de animais proposto, tendo como base para análise a Legislação vigente (Lei Nº 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, bem como a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI.

Acresce a esse Parecer a exigência de Relatório Final de Atividades conforme itens a seguir:

RESUMO DOS RESULTADOS FINAIS OBTIDOS A PARTIR DOS EXPERIMENTOS
ENVOLVENDO A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS NO PROJETO DE PESQUISA

- 3 Número do protocolo de submissão do projeto de pesquisa à CEUA/UFV;
- 4 Metodologia completa obrigatoriamente com:
 - Local (is) Geral (is) e específico (s) oficial (is) onde ocorreu a experimentação;
 - O nome científico do animal em questão;
 - Número total de animais utilizados na pesquisa.
- 5 Resultados:
- 6 Nome do Coordenador do Projeto:
Assinatura:
- 7 Nome do Responsável Técnico:
Assinatura:
Inscrição em CRMV:


Prof.ª Átina Clemente Alves Zuanon
Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV