

**WINDER TADEU SILVA TON**

**EFEITO DA INGESTÃO DO ISOLADO PROTEICO DO SORO DE  
LEITE E DA SOJA NO PERFIL ANTIOXIDANTE, NA RESPOSTA  
METABÓLICA E NO DESEMPENHO FÍSICO EM HOMENS  
CICLISTAS**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

T663e  
2014  
Ton, Winder Tadeu Silva, 1987-  
Efeito da ingestão do isolado protéico do soro de leite e soja  
no perfil antioxidante, na resposta metabólica e no desempenho  
físico em homens ciclistas / Winder Tadeu Silva Ton. – Viçosa,  
MG, 2014.  
xi, 57f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Rita de Cássia Gonçalves Alfenas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Suplementos Dietéticos. 2. Soro de leite - Proteína.  
3. Proteína de soja. 4. Ciclistas (Esporte). 5. Stress oxidativo.  
6. Metabolismo. 7. Desempenho físico. I. Universidade Federal  
de Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de  
Pós-graduação em Ciência da Nutrição. II. Título.

CDD 22. ed. 613.28

**WINDER TADEU SILVA TON**

**EFEITO DA INGESTÃO DO ISOLADO PROTEICO DO SORO DE  
LEITE E DA SOJA NO PERFIL ANTIOXIDANTE, NA RESPOSTA  
METABÓLICA E NO DESEMPENHO FÍSICO EM HOMENS  
CICLISTAS**

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

**APROVADA: 31 de julho de 2014.**

---

Paula Guedes Cocate

---

Antônio José Natali

---

Rita de Cássia Gonçalves Alfenas  
(Orientadora)

*À Deus pelo dom da vida e aos meus pais, Tadeu e Mimi.*

## CONTEÚDO

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE DE TABELAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
<b>Artigo - EFEITO DA INGESTÃO DO ISOLADO PROTEICO DO SORO DE LEITE E DA SOJA NO PERFIL ANTIOXIDANTE, NA RESPOSTA METABÓLICA E NO DESEMPENHO FÍSICO EM HOMENS CICLISTAS</b>	<b>6</b>
<b>Introdução</b>	<b>7</b>
<b>Metodologia</b>	<b>9</b>
<b>Resultados</b>	<b>17</b>
<b>Discussão</b>	<b>26</b>
<b>Conclusão</b>	<b>34</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>35</b>
CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
ANEXOS	43

## LISTA DE FIGURAS

<b>Artigo</b>	<b>EFEITO DA INGESTÃO DO ISOLADO PROTEICO DO SORO DE LEITE E DA SOJA NO PERFIL ANTIOXIDANTE, NA RESPOSTA METABÓLICA E NO DESEMPENHO FÍSICO EM HOMENS CICLISTAS</b>	
	<b>Figura 1</b> Protocolo experimental realizado com 10 ciclistas treinados.	<b>13</b>
	<b>Figura 2:</b> Média $\pm$ EP da concentração e da atividade de parâmetros bioquímicos relacionados ao estresse oxidativo no primeiro e oitavo dia de ingestão de bebidas contendo isolados proteicos de Soro de Leite, Soja ou Controle , antes e após a realização do exercício em cicloergômetro, em homens ciclistas (n=10). A) Atividade superóxido dismutase. B) Atividade glutatona peroxidase (GPx). C) Concentração de glutatona (GHS). D) Capacidade antioxidante total. E) Concentração de proteína carbonilada. F) Concentração de 8-Isoprostano. G) Concentração de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS).	<b>20</b>
	<b>Figura 3:</b> Média $\pm$ EP da distância percorrida (km) pelos ciclistas, no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas.	<b>22</b>
	<b>Figura 4 A, B e C:</b> Média $\pm$ EP da área incremental (iAUC) de A) concentração de lactato, B) glicose e C) insulina durante o protocolo de exercício, no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas contendo isolado proteico de soro de leite e de soja ou controle (n=10).	<b>22</b>
	<b>Figura 5 A e B:</b> Média $\pm$ EP da A) termogênese induzida pela dieta e do B) gasto energético total diário de ciclistas no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas contendo isolado proteico de soro de leite ou de soja, ou controle (n=10).	<b>23</b>
	<b>Figura 6 A e B:</b> Média $\pm$ EP da A) oxidação de carboidratos (g/min) e da B) oxidação de lipídeos (g/min) durante 145 min de protocolo, no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas contendo isolado proteico de soro de leite ou de soja, ou controle, em ciclistas treinados (n=10).	<b>23</b>
	<b>Figura 7:</b> Média $\pm$ EP do coeficiente respiratório (RQ) durante 145 min de protocolo, no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas SL= Soro de leite, S= Soja ou C= Controle em ciclistas treinados (n=10).	<b>24</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Artigo</b>	<b>EFEITO DA INGESTÃO DO ISOLADO PROTEICO DO SORO DE LEITE E DA SOJA NO PERFIL ANTIOXIDANTE, NA RESPOSTA METABÓLICA E NO DESEMPENHO FÍSICO EM HOMENS CICLISTAS</b>	
	<b>Tabela 1:</b> Ingredientes utilizados para o preparo das bebidas testadas.	<b>11</b>
	<b>Tabela 2:</b> Composição nutricional das bebidas testadas no estudo.	<b>11</b>
	<b>Tabela 3:</b> Composição aminoacídica das proteínas adicionadas às bebidas testadas, em 100g de proteínas.	<b>12</b>
	<b>Tabela 4:</b> Média $\pm$ erro padrão das características basais de ciclistas treinados (n=10) participantes do estudo.	<b>19</b>
	<b>Tabela 5:</b> Média $\pm$ erro padrão dos níveis de glicose, insulina e lactato em ciclistas durante o repouso e exercício no primeiro e oitavo dia de ingestão de bebidas contendo (soro de leite ou soja) ou não (controle) os isolados proteicos testados no estudo.	<b>25</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AACR	Aminoácido de cadeia ramificada
AMDR	<i>Acceptable Macronutrient Distribution Range</i> - Faixa aceitável de distribuição de macronutrientes
ANCOVA	Análise de co-variância
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato ou trifosfato de adenosina
C	Controle
cm	Centímetros
C2C12	Tipo celular muscular
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio Padrão
EP	Erro padrão
g	Gramma
g/kg peso/dia	Gramma de nutriente por quilograma de peso corporal
GET	Gasto energético total
GSH	Glutathiona
GPx	Glutathiona peroxidase
h	Hora
HDL	<i>High density lipoprotein-cholesterol</i> – Lipoproteína de alta densidade-colesterol
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
iAUC	<i>Incremental area under the curve</i> – area incremental abaixo da curva
IMC	Índice de Massa Corporal
IPAQ	<i>International Physical Activity Questionnaire</i> – Questionário internacional de atividade física
kcal	Quilocaloria
kcal/dia	Quilocaloria por dia
kg	Quilograma
kg/m <sup>2</sup>	Quilograma por metro quadrado
km	Kilômetros
LDL	<i>Low density lipoprotein-cholesterol</i> – Lipoproteína de baixa densidade – colesterol
LIP	Lipídio
m	Metro
máx	Máximo
mg	Miligrama
mg/dL	Miligrama por decilitro
min	Mínimo



mL	Mililitro
mL/dL	Mililitro por decilitro
mm	Milímetros
mmol	Milimol
M	Molar
NADH	Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
nm	Nanômetro
nmol	nanomol
O <sub>2</sub>	Oxigênio
PTN	Proteína
RPM	Rotações por minuto
RQ	Quociente respiratório
SEEDO	<i>Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad</i> - Sociedade espanhola para o estudo da obesidade
S	Soja
SL	Soro de leite
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substância reagente do ácido tiobarbitúrico
<i>TFEQ</i>	<i>Three-factor eating questionnaire</i> - Questionário para avaliação da restrição alimentar, desinibição alimentar e fome
TID	Termogênese induzida pela dieta
TMR	Taxa metabólica de repouso
UFV	Universidade Federal de Viçosa
VO <sub>2max</sub>	Volume máximo de oxigênio
<i>VLDL-c</i>	<i>Very low density lipoprotein-cholesterol</i> - Lipoproteína de muito baixa densidade – colesterol
μL	Microlitro
±	Mais ou menos
°C	Graus Celsius

## RESUMO

TON, Winder Tadeu Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2014. **Efeito da ingestão do isolado proteico do soro de leite e da soja no perfil antioxidante, na resposta metabólica e no desempenho físico em homens ciclistas.** Orientadora: Rita de Cássia Gonçalves Alfenas. Coorientador: João Carlos Bouzas Marins.

Metodologia: Trata-se de um estudo crossover randomizado, no qual 10 homens ciclistas participaram de 3 etapas experimentais com duração de 8 dias. Em cada etapa, os ciclistas ingeriram 1 dos 3 tipos bebida, contendo (soro de leite ou de soja) ou não isolado proteico (controle). No primeiro e no oitavo dia de cada etapa experimental, os ciclistas se apresentaram ao laboratório, após 10 horas de jejum e ingeriram a bebida testada. A seguir, foi feito exercício físico em cicloergômetro durante 45 minutos, dividido em duas partes: aquecimento e exercício principal. O aquecimento teve duração de 15 minutos, com três níveis de intensidade (FCR 40–50%, 50–55% e 60–70%) à 60 rpm ( $\approx 20$  km/h). O exercício principal, teve duração total de 30 min, constituído de 6 ciclos de 5 minutos. Cada ciclo teve 3 fases. Fase 1: duração de 1,5 min, carga 3 watts/kg de peso corporal à 60 rpm; Fase 2: duração 3 min, carga 2 watt/kg à 60 rpm; Fase 3: sprint de 30 seg, carga 6 watts/kg e velocidade máxima. Para o cálculo do desempenho, foram somadas as distâncias percorridas nos 6 sprints. O gasto energético, termogênese induzida pela dieta e a oxidação de substratos foram avaliados durante o protocolo. Amostras de sangue foram coletadas para análise da glicemia, insulinemia e lactato nos tempos 0 (jejum), 30, 60 75, 85, 105 min (exercício). Os níveis de marcadores do estresse oxidativo foram avaliados no tempo 0 e 105 min. Aplicou-se Teste t pareado, para detectar diferenças nos parâmetros avaliados, ao início e ao final de cada etapa experimental. Para verificar diferenças entre os tratamentos, aplicou-se o teste ANOVA One-Way, seguido pelo teste de Dunnet. O teste ANOVA de Medidas Repetidas, seguido por Tukey foi aplicado para verificar a interação entre os fatores tempo e tratamento. As diferenças entre os níveis de marcadores entre os tratamentos foi avaliada por análise de covariância (ANCOVA), seguida por Tukey-Kramer. O critério de significância estatística adotado foi  $p < 0.05$ . Resultados: Os ciclistas tinham (média  $\pm$  erro padrão)  $26,8 \pm 8$  anos de idade; índice de massa corporal  $22,83 \pm 2,14$  kg/m<sup>2</sup>;  $12,6 \pm 3,5\%$  de gordura corporal;  $VO_{2max}$   $58,9 \pm 2,3$  ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>. O desempenho dos ciclistas e a oxidação lipídica, no 8º dia de ingestão do soro de leite foi maior que o da

soja e o controle ( $1.8\pm 0.6$  e  $1.75\pm 0.55$ km, respectivamente,  $p<0.05$ ). Ao 8º, após o exercício as bebidas com soro de leite e soja aumentaram a atividade da glutathione peroxidase e concentração da glutathione e evitaram o aumento dos níveis de TBARS e 8-isoprostano, em relação ao controle ( $p<0.05$ ). Conclusão: A ingestão de bebida contendo isolado proteico de soro de leite por oito dias consecutivos aumentou o desempenho físico e a oxidação lipídica no ciclistas. Tanto as proteínas do soro de leite quanto da soja foram capazes de melhorar o perfil antioxidante dos ciclistas após o exercício.

**Palavras chave:** proteína do soro de leite, proteína de soja, estresse oxidativo, resposta metabólica, desempenho físico, ciclistas.

## ABSTRACT

TON, Winder Tadeu Silva Ton, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2014. **Effect of isolate protein consumption from whey and soy on antioxidant profile, metabolic response and performance in cyclists men.** Advisor: Rita de Cássia Gonçalves Alfenas. Co-advisor: João Carlos Bouzas Marins.

**Methodology:** This is a randomized crossover study, in which 10 men trained cyclists participated in 3 experimental phases of 8 days length each. In each phase cyclists drunk 1 of 3 types of test drinks containing isolate protein (whey or soy) or not (control). In the first and last days of the experimental phase, cyclists attended to the laboratory in the morning (after 10 h fasting) to drink the test drink. Then, an exercise protocol was performed in cycloergometer for 45 minutes, which was divided in two parts: warm-up and exercise. The 15 min warm-up had three levels of intensity (HRreserve: 40–50%, 50–55% e 60–70%) with 60rpm ( $\approx 20$  km/h) of cadence. The 30 min exercise was composed of 6 cycles of 5 min. Each cycle had three levels of intensity. Level 1: 2 watts/kg during 3 min at 60 rpm; Level 2: 3 watts/kg during 1,5 min at 60 rpm; Level 3: 6 watts/kg during 30 s sprint at maximum cadence. The distances performed in all 6 sprints were summed to assess performance. Energy expenditure and rate of substrate oxidation were measured. Blood samples were collected to assess glycemia, insulinemia and lactate concentrations at times 0 (fasted), 30, 60, 75, 85 and 105 min (post exercise). Concentrations of oxidative stress markers were assessed at 0 and 105 min. The differences between beginning and ending of each experimental phase were analyzed by Student t test. The differences between treatments were analyzed by One-way ANOVA, followed by Dunnet test. repeated measures ANOVA, followed by Tukey were applied to assess interactions between time and treatment. Differences in the concentrations of oxidative stress markers were analyzed by ANCOVA, followed by Tukey-Kramer. The criterion for statistical significance adopted was  $p < 0.05$ . Results: Cyclist were (mean  $\pm$  SE) 26.8 $\pm$ 8 years old; had body mass index 22.83 $\pm$ 2.14 kg/m<sup>2</sup>; 12.6 $\pm$ 3.5% of body fat; VO<sub>2</sub>max 58.9 $\pm$ 2.3ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>. Performance and lipid oxidation increased in the eighth day of whey protein consumption compared with soy and control. At day eight, after exercise, whey and soy increased glutathione peroxidase activity and glutathione concentration. Both types of proteins inhibited an increase in TBARS and 8-isoprostane concentrations compared with control. Conclusion:

Consumption of whey protein drink for eight consecutive days increased performance and lipid oxidation in trained cyclists. Whey and soy proteins improved the antioxidant profile of cyclists after exercise.

**Key words:** whey protein, soy protein, oxidative stress, metabolic response, performance, cyclists.

# **EFEITO DA INGESTÃO DO ISOLADO PROTEICO DO SORO DE LEITE E DA SOJA NO PERFIL ANTIOXIDANTE, NA RESPOSTA METABÓLICA E NO DESEMPENHO FÍSICO EM HOMENS CICLISTAS**

## **INTRODUÇÃO GERAL**

O ciclismo é um esporte de competição que na última década tem tido mais destaque (SKY; British Cycling, 2012). Após as Olimpíadas de Londres, no ano de 2012, sua popularidade mundial aumentou de 38 % para 45 %. Tanto a modalidade de ciclismo de estrada, quanto a de mountain bike, exigem do ciclista treinamento físico para suportar diferentes intensidades de exercício (aeróbico ou anaeróbico), para aplicar alta força em curto tempo (subidas e sprints) e resistência muscular e cardiorrespiratória para suportar as provas de longa duração. Estes três aspectos fisiológicos do ciclismo conferem o desempenho físico do atleta. Portanto, o nível de desempenho físico é a chave para o sucesso esportivo. Nesse sentido, a ingestão de uma dieta nutricionalmente adequada, oferecendo suporte calórico e de nutrientes, se torna importante para alcançar o sucesso (SBME, 2009).

Os carboidratos da dieta, são essenciais tanto para manter os estoques de glicogênio e quanto para manter níveis glicêmicos adequados, ambos necessários durante a realização dos exercícios de alta intensidade e longa duração (SBME, 2009). A ingestão de carboidratos pré e pós-exercício para maximizar e repor os estoques de glicogênio é uma prática eficaz e bem documentada pela literatura científica (Kerksick et al., 2008). Entretanto os carboidratos por si só, não são capazes de estimular a síntese proteica muscular e a resposta adaptativa ao exercício de longa duração (Maughan, 2003). Durante os treinos e competições de provas de longa duração, a homeostase muscular é alterada, ocorrendo proteólise muscular que se estende ao período pós-exercício (Ivy, 2004). Por esta razão, as proteínas são um importante substrato para reparar o dano muscular através da síntese proteica e proporcionar adaptação muscular ao tipo de exercício (Hill et al., 2013; Cox et al., 2010).

As proteínas do soro de leite e de soja têm recebido atenção especial por serem proteínas de alto valor biológico e de rápida e intermediária digestão, respectivamente.

Estudos demonstraram efeito positivo dessas proteínas na recuperação e hipertrofia musculares (Yang et al., 2012a; Yang et al., 2012b; Burke et al., 2011; Harber et al., 2010; Moore et al., 2009; Tang et al., 2009; Tipton et al., 2004). Além disso, a proteína do soro de leite exerce efeito insulínico (Nilsson; Bjorck 2007) e é capaz de manter os níveis de glicose sempre constantes, sem picos hiperglicêmicos e grandes flutuações (Ton et al., 2014). A elevação acentuada da glicemia pode resultar em hipersecreção insulínica, promovendo a queda acentuada da glicemia (Ludwig, 2002), o que pode comprometer a oferta adequada de energia advinda de carboidratos necessária para a realização do exercício físico, principalmente quando consumida antes do início da atividade.

A redução das reservas de glicogênio e da concentração de ATP nas células musculares é uma das causas da fadiga muscular periférica. Argumenta-se que os aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) podem ativar o complexo enzimático desidrogenase dos  $\alpha$ -cetoácidos de cadeia ramificada, que por sua vez promove a oxidação desses aminoácidos aumentando a produção de ATP em níveis adequados para atender a demanda energética durante a realização do exercício, principalmente em condições extremas. Em provas de longa duração, a disponibilidade de AACR podem poupar as reservas de glicogênio durante o exercício (Araújo et al., 2006). A proteína do soro do leite (leucina: 92,4 mg/g, isoleucina: 54,3 mg/g e valina: 50,7 mg/g) e a da soja (leucina: 73,0 mg/g; isoleucina: 40,2 mg/g valina: 43,96 mg/g) apresentam altos teores de AACR (Hughes et al., 2011). Assim, acredita-se que o consumo desses tipos de proteínas possa melhorar o desempenho esportivo.

Durante os processos metabólicos de produção de energia, as mitocôndrias geram espécies reativas (de oxigênio ou de nitrogênio) ou radicais livres. Essas espécies reativas podem ser naturalmente eliminadas das células ou convertidas em moléculas menos nocivas, após a atuação de enzimas do complexo antioxidante (como a superóxido dismutase e glutatona peroxidase) (Mantena et al., 2008; Batinic-Haberle et al., 2010).

Durante o repouso, os indivíduos que praticam atividade física regularmente conseguem eliminar essas espécies de maneira mais eficientes do que os indivíduos sedentários (Jammes et al., 2004). Apesar disto, a realização de exercícios que requerem grande gasto de energia, principalmente aqueles de longa duração (provas de ciclismo, maratonas, natação, etc.), pode resultar em altos níveis no organismo, favorecendo a ocorrência de estresse oxidativo, aumento dos níveis plasmáticos de marcadores de

peroxidação protéica (proteína carbonilada) ou lipídica (substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico – TBARS e isoprostanos) (Pepe et al., 2009; Petry et al., 2010). Argumenta-se que a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio deve ser minimizada, para que haja um desempenho físico adequado (Mariotti et al., 2003).

As proteínas da soja e do soro do leite são ótimas opções para serem inseridas na alimentação, pois contém todos os aminoácidos essenciais. Entretanto, ainda não foram documentados os efeitos no rendimento esportivo resultantes do consumo de tais proteínas, por vários dias consecutivos e suas decorrências no metabolismo e no estresse oxidativo. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo investigar o efeito de diferentes isolados proteicos sobre o desempenho físico, metabolismo e nos níveis de marcadores do stress oxidativo.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, J. R.; et al. Effect of chronic supplementation with branched-chain amino acids on the performance and hepatic and muscle glycogen content in trained rats. **Life Sciences**, v. 79, n. 14, p. 1343-1348, 2006.
- BATINIC-HABERLE, I.; REBOUCAS, J. S.; SPASOJEVIC, I. Superoxide dismutase mimics: chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. **Antioxid Redox Signal**, v. 13, n. 6, p. 877-918, Sep 15 2010. ISSN 1523-0864.
- BURKE, L. M. et al. Preexercise aminoacidemia and muscle protein synthesis after resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 10, p. 1968-77, Oct 2012. ISSN 0195-9131.
- COX, GR.; et al. Daily training with high carbohydrate availability increases exogenous carbohydrate oxidation during endurance cycling. **J Appl Physiol**, n. 109, p. 126–134, 2010.
- HARBER, M.P.;et al. Muscle protein synthesis and gene expression during recovery from aerobic exercise in the fasted and fed states. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, n. 299, p. 1254–62, 2010.
- HILL, K.M.; et al. Co-ingestion of carbohydrate and whey protein isolates enhance PGC-1 $\alpha$  mRNA expression: a randomised, single blind, cross over study. **J Int Soc Sports Nutr**, n. 12, v. 10, 2013.
- HUGHES, G.J.; RYAN, D.J.; MUKHERJEA, R.; SCHASTEEN, C.S. Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores (PDCAAS) for Soy Protein Isolates and Concentrate: Criteria for Evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 23, p. 12707–12712, 2011.
- IVY, J. Regulation of muscle glycogen repletion, muscle protein synthesis and repair following exercise. **J Sports Sci Med**, n. 3, p. 131–138, 2004.
- JAMMES, Y; STEINBERGB, J. G; BREGEON, F; DELLIAUXB, S. The oxidative estresse in response to routine incremental cycling exercise in healthy sedentary subjects. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 144, n. 1, p. 81-90, 2004.
- KERKSICK, C.; et al. International Society of Sports Nutrition position stand: nutrient timing. **J Int Soc Sports Nutr**, n. 57 v. 16, 2008.
- LUDWIG, D. S. The glycemic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. **Journal of the American Medical Association**, v. 287, n. 18, p. 2414-2423, 2002.
- MANTENA, S. K, et al. Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Estresse in the Pathogenesis of Alcohol and Obesity Induced Fatty Liver Diseases. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 44, n. 7, p. 1259-1279, 2008.

MARIOTTI, F.; et al. Acute Ingestion of Dietary Proteins Improves Post-Exercise Liver Glutathione in Rats in a Dose-Dependent Relationship with their Cysteine Content. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 1, p. 128-131, 2004.

MAUGHAN R. Nutritional status, metabolic responses to exercise and implications for performance. **Biochem Soc**, n. 31, v. 6, p. 1267–1269, 2003.

MOORE, D.R.; et al. Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men. **Am J Clin Nutr**, n. 89, p. 161–8, 2009.

NILSSON, M.; HOLST, J.; BJORCK, I. Metabolic effect of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose equivalent drinks. **Am J Clin Nutr**, n. 85, p. 996–1004, 2007.

PEPE, H.; BALCI, S. S.; REVAN, S.; AKALIN, P. P.; KURTOGLU, F. Comparison of Oxidative Estresse and Antioxidant Capacity Before and After Running Exercises in Both Sexes. **Gender Medicine**, v. 6, n. 4, p. 587-595, 2009.

PETRY, E. R.; ALVARENGA, M. L.; CRUZAT, V. F.; TIRAPAGUI, J. Exercício físico e estresse oxidativo: mecanismos e efeitos. **Revista Brasileira Cineantropometria e Movimento**, v. 18, n. 4, p. 90-99, 2010.

SKY; BRITISH CYCLING. “The Olympic Effect” A report prepared for Sky and British Cycling. September 2012. Encontrado em: <http://corporate.sky.com/documents/publications-and-reports/2012/the-olympic-cycling-effect.pdf>. Acesso em: 12 de Julho de 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais de riscos para a saúde. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.15, n.3, p. 3-12, 2009.

TANG, J.E.; et al. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. **J Appl Physiol**, n. 107, p. 987–992, 2009.

TIPTON, K. D.; et al. Ingestion of casein and whey proteins result in muscle anabolism after resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, n. 36, p. 2073–2081, 2004.

TON, W.T.S.; et al. Effect of different protein types on second meal postprandial glycaemia in normal weight and normoglycemic subjects. **Nutr Hosp.**, n. 29, v. 3, p. 553-558, 2014.

YANG, Y.; et al. Myofibrillar protein synthesis following ingestion of soy protein isolate at rest and after resistance exercise in elderly men. **Nutr Metab**, n. 9, p. 57, 2012a.

YANG, Y.; et al. Resistance exercise enhances myofibrillar protein synthesis with graded intakes of whey protein in older men. **Br J Nutr**, n. 4, 2012b

**Artigo – EFEITO DA INGESTÃO DO ISOLADO PROTEICO DO SORO DE LEITE E DA SOJA NO PERFIL ANTIOXIDANTE, NA RESPOSTA METABÓLICA E NO DESEMPENHO FÍSICO EM HOMENS CICLISTAS**

## **Introdução**

O bom desempenho físico é a chave para o sucesso dos atletas. A ingestão de uma dieta adequada é essencial para que o atleta alcance o sucesso na realização dos esportes.

Os carboidratos dão o suporte energético requerido à realização de exercícios de moderada a alta intensidade, como o ciclismo (Sherman, 1995). A importância da ingestão de carboidratos pré e pós-exercício para maximizar e repor os estoques de glicogênio, respectivamente, está bem documentada pela literatura científica (Kerksick et al., 2008). Por outro lado, as proteínas ingeridas podem estimular a síntese proteica, favorecendo o reparo do dano muscular após a prática de exercícios físicos e a adaptação muscular ao exercício de longa duração (Hill et al., 2013; Cox et al., 2010; Maughan, 2003). Essa proteína pode ainda fornecer a energia requerida durante os exercícios de maior duração (Araujo-Jr et al., 2006; Aoi et al., 2011). Acredita-se que alguns tipos de proteína apresentam poder antioxidante (Xu et al., 2011; Sinha et al., 2007; Beerman et al., 2009) e podem diminuir o efeito deletério do estresse oxidativo em atletas. Todos esses efeitos podem favorecer o desempenho de um atleta.

Durante a realização de exercícios físicos, há aumento do consumo e do fluxo de oxigênio, especialmente nas células musculares, responsáveis pela contração. Esse aumento do fluxo de oxigênio na cadeia transportadora de elétrons pode exceder a capacidade de oxidação, originando espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (Packer et al., 2008). Se a produção crônica dessas espécies reativas exceder a capacidade de produção de agentes antioxidantes, pode haver oxidação de componentes celulares, levando à perda de organelas ou até mesmo à apoptose (Halliwell; Gutteridge, 2007). A produção excessiva de agentes oxidantes em relação aos antioxidantes denomina-se estresse oxidativo, podendo resultar em dano celular (Veskoukis et al., 2007), atrofia e fadiga muscular (Powers et al., 2011), comprometendo assim, o desempenho durante os exercícios físicos.

Embora os resultados dos estudos tenham demonstrado o efeito positivo no desempenho das proteínas para ciclistas (McLeave et al., 2011; Ferguson-Stegall et al., 2010; Saunders et al., 2009; Valentine et al., 2008; Rowland et al., 2008; Saunders et al., 2004; Ivy et al., 2003) comparada aos carboidratos, pouco se sabe sobre o efeito de diferentes proteínas sobre o desempenho. Acredita-se que o referido efeito esteja

associado à velocidade de digestão e à qualidade das proteínas ingeridas (Reidy et al., 2013).

As proteínas de soro de leite e soja são de rápida e moderada digestão, respectivamente. Além disso, a alta concentração e alta biodisponibilidade de aminoácidos essenciais nessas proteínas (Campbell et al., 2007) permitem a melhor recuperação e a hipertrofia musculares (Yang et al., 2012a; Yang et al., 2012b; Burke et al., 2011; Harber et al., 2010; Moore et al., 2009; Tang et al., 2009; Tipton et al., 2004). Acredita-se que o alto teor de aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina) pode favorecer o aumento dos estoques de glicogênio (Campos et al., 2011) e que estão envolvidos na modulação das respostas glicêmica e insulinêmica (Ton et al., 2014; Akhavan et al., 2010; Nilsson et al., 2004), da resistência à fadiga muscular (Chen et al., 2014). Além disso, é possível que as proteínas do soro de leite (Xu et al., 2011; Sinha et al. 2007) e da soja (Beermann et al. 2009; Chen et al., 1995) exerçam efeitos positivo no desempenho de atletas, uma vez que ambas contêm peptídeos que apresentam alto poder antioxidante.

As proteínas em geral, também têm um papel importante no metabolismo energético, por aumentarem a termogênese induzida pela dieta (Alfenas et al., 2010; Halton; HU 2004; Jonhston et al., 2002; Karst et al., 1984; Nair et al., 1983). Em atletas praticantes de esporte de longa duração (como o ciclismo) pode haver adaptações metabólicas que levam ao aumento da utilização de lipídeos como substrato energético durante o exercício (Hawley et al., 1998). Sugere-se que o aumento da capacidade de oxidação lipídica durante o exercício esteja relacionado ao desempenho físico dos atletas (Achten; Jeukendrup, 2004). O consumo de carboidrato prévio ao exercício suprime a oxidação lipídica (Bennard and Doucet 2006; Horowitz et al. 1997; Jeukendrup et al. 1998; Roy et al. 1998). Entretanto, o efeito da ingestão de proteínas sobre a oxidação de substratos para produção de energia em atletas não está claro.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do consumo de isolados proteicos de soro de leite e de soja sobre os níveis dos marcadores do estresse oxidativo induzido pelo exercício, no metabolismo energético e no desempenho físico em homens ciclistas.

## Metodologia

### *Amostra*

O recrutamento foi feito por meio de cartazes no campus da universidade, nas academias e grupos de ciclismo da cidade. Os interessados foram entrevistados (76 homens ciclistas treinados e praticantes de atividade física) para verificar se atendiam aos critérios de inclusão. Nesta entrevista eram esclarecidos todos os objetivos e procedimentos do estudo. A seguir, 15 ciclistas foram encaminhados ao laboratório para realização de exames bioquímicos e avaliação da composição corporal. Destes apenas 12 foram recrutados. Entretanto, 2 ciclistas desistiram de participar ao início do estudo, 1 ciclista apresentou níveis alterados de glicose, triglicerídeos, colesterol total e frações. Este último ciclista, recebeu uma consulta nutricional e uma dieta prescrita.

Participaram do estudo 10 homens ciclistas treinados e saudáveis. Foram considerados os seguintes critérios de inclusão: prática regular de ciclismo (no mínimo 3 vezes/semana) nos últimos 4 meses, idade entre 18 e 30 anos, gordura corporal entre 12 e 20 % (Seedo, 2000), não fumantes ou etilistas, nível de restrição/desinibição alimentar < 14 (Strunkard; Messick, 1985), ingestão proteica habitual entre 1,2 e 1,4 g por kg de peso por dia (SBME, 2009), não fazer uso de medicamentos que alteram o metabolismo, não utilizar suplementos dietéticos para desempenho esportivo, sem histórico familiar de doenças renais, intestinais inflamatórias, alergia ou intolerância aos ingredientes das bebidas testadas, além de apresentar pressão arterial e níveis sanguíneos de glicose, triglicerídeos, colesterol total e suas frações normais.

O estudo teve um poder estatístico de 95% (Mera *et al.*, 1998), o valor médio e o desvio padrão apresentados pelos participantes no baseline e uma diferença de 15% para o valor médio de *Sprints* (variável principal) (Rankin *et al.*, 2006).

Antes de serem incluídos no estudo, todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (Ref.131/2012/CEPH05-12-04). Este estudo está em conformidade com os termos da Declaração de Helsinki.

### *Desenho experimental*

Trata-se de um estudo crossover randomizado, em que os ciclistas completaram 3 etapas experimentais. Em cada etapa, os ciclistas fizeram a ingestão de uma bebida contendo 0,5g proteína/kg de peso, durante oito dias consecutivos. Houve um intervalo de no mínimo uma semana entre uma etapa e outra. No primeiro e no oitavo dia de cada etapa, os ciclistas compareceram ao laboratório após 10 h de jejum, para uma sessão experimental, em que foi feito a mensuração do gasto energético, além da realização de exercício físico e coleta de amostras sanguíneas. Do segundo ao sétimo dia, os ciclistas compareceram ao laboratório pela manhã e ingeriram a bebida testada.

O nível de atividade física dos participantes foi avaliado ao início de cada etapa experimental. Para caracterização da amostra, os ciclistas foram submetidos ao teste de Consumo Máximo de Oxigênio ( $VO_{2max}$ ). A ingestão habitual foi avaliada, antes do início do estudo e a ingestão alimentar em cada etapa também foi avaliada.

No primeiro dia de cada etapa, os participantes do estudo receberam um plano alimentar, com uma lista de substituição específica, para ser seguido durante os 8 dias de cada etapa. Esse plano foi elaborado levando em consideração o teor de macronutrientes e fibras apresentado pela bebida testada. Isso foi realizado para que pudéssemos atribuir os resultados a qualidade proteica de cada bebida.

*Bebidas Testadas:* Foram testados três tipos de bebidas contendo (soro de leite ou soja) ou não isolado proteico (controle). Todas continham 350 ml água e os mesmos ingredientes (Tabela 1). As bebidas continham valores semelhantes de calorias, macronutrientes e fibras (Tabela 2). A bebida ingerida forneceu em média 15 a 20% de suas necessidades calóricas diárias de cada participante. O perfil aminoacídico das proteínas do soro de leite e da soja adicionadas às bebidas é apresentado na Tabela 3.

*Teste de Exercício Físico:* O exercício foi realizado no Laboratório de Performance Humana, em cicloergômetro ISO1000 (SCIFIT, Berkshire, UK), 1 h após a ingestão da bebida testada. O protocolo do exercício foi composto por duas partes, aquecimento e exercício. Para a adaptação ao exercício, o aquecimento foi dividido em 3 fases de 5 minutos cada uma, totalizando 15 minutos, com cargas diferenciadas em função do cálculo da zona alvo, tomando como referência o conceito de frequência cardíaca de reserva (FCR) (Karvonen et al.,1957). Dessa forma, as fases adotadas foram: Fase 1: 5 min 40 – 50 % FCR; Fase 2: 5 min 50 – 55 % FCR; Fase 3: 5 min 60 –

70 % FCR. Em todas essas fases a velocidade foi constante (60 rpm  $\approx$  20 km/h). A parte do exercício foi composta por 6 ciclos de 5 minutos, totalizando 30 minutos de duração. Cada ciclo foi composto por 3 fases. Assim, Fase 1: duração de 3 min com carga de 2 watt/kg de peso corporal e velocidade constante de 60 rpm; Fase 2: duração de 1.5 min com carga de 3 watts/kg de peso corporal e velocidade constante de 60 rpm; Fase 3: Sprint com duração de 30 segundos com carga de 6 watts/kg de peso corporal e velocidade máxima (Figura 1). Imediatamente antes do início do exercício e a cada 15 min, a hidratação do ciclista foi realizada com água filtrada na proporção de 3 ml/kg de peso corporal. Durante o exercício foram monitorados de forma contínua a frequência cardíaca (Polar A1, Finland) e a cada 15 min foram aferidas a pressão arterial e aplicado a Escala Subjetiva de Esforço (Borg, 1998).

**Tabela 1.** Ingredientes utilizados para o preparo das bebidas testadas:

<b>Ingredientes</b>	<b>Soro do leite</b>	<b>Soja</b>	<b>Controle</b>
Isolado Proteico do Soro de leite	X		
Isolado Proteico da Soja		X	
Leite em pó desnatado			X
Chocolate em pó	X	X	X
Açúcar Cristal	X	X	
Cobertura de Chocolate	X	X	
Óleo de Soja	X	X	
Adoçante	X	X	X

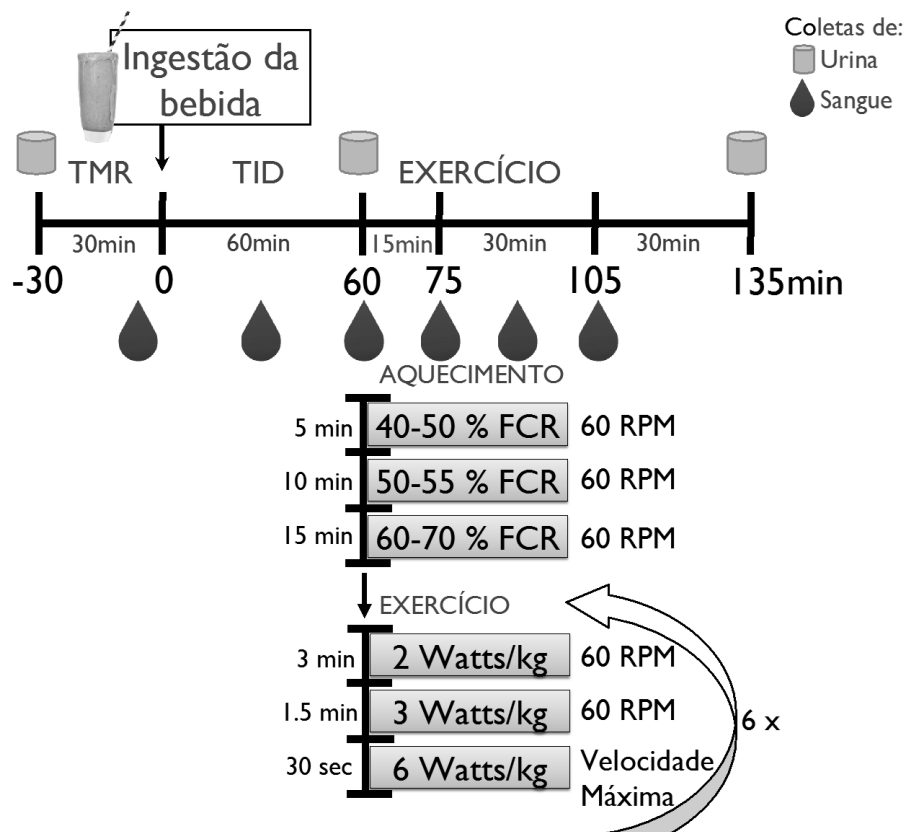
**Tabela 2.** Composição nutricional das bebidas testadas no estudo:

<b>Bebida</b>	<b>Calorias (kcal)</b>	<b>Carboidratos (g)</b>	<b>Proteínas (g)</b>	<b>Gorduras totais (g)</b>	<b>Fibra Alimentar (g)</b>
Soro do leite	361,3	55,4	30,5	1,9	2,6
Soja	361,4	55,5	30,5	1,9	4,2
Controle	340,3	52,2	28,7	1,8	3,6



**Tabela 3.** Composição aminoacídica das proteínas adicionadas às bebidas testadas, em 100g de proteínas:

	Soja (Hughes et al., 2011)	Soro de leite (Gunnerud et al., 2012)
Alanina	4,3	5,5
Arginina	8,4	2,1
Ácido Aspártico	12,4	11,9
Cisteína	1,3	2,7
Ácido Glutâmico	19,4	19,5
Glicina	4,2	1,8
Histidina	2,6	2,0
Isoleucina	4,9	7,6
Leucina	8,2	11,4
Lisina	6,3	10,4
Metionina	1,3	2,4
Fenilalanina	5,2	3,2
Prolina	5,2	7,3
Serina	5,1	5,7
Treonina	3,7	8,1
Triptofano	1,3	2,0
Tirosina	3,9	3,1
Valina	5,1	6,6



**Figura 1:** Protocolo experimental realizado com 10 ciclistas treinados. TMB = Taxa Metabólica Basal, TID = Termogênese Induzida pela Dieta, FCR = Frequência Cardíaca de Reserva, RPM = Rotações por Minuto, Min = Minutos.

### *Análises bioquímicas e da concentração de marcadores do estresse oxidativo*

No primeiro e no oitavo dia de cada etapa experimental, amostras sanguíneas foram coletadas nos tempos 0 (imediatamente antes da ingestão), 30, 60, 75, 85 e 105 min após a ingestão da bebida, para avaliação da glicemia e insulinemia. O nível de lactato sanguíneo foi avaliado no tempo 60 min, imediatamente antes do início da realização do exercício e nos tempos de 75, 85 e 105 min (durante o exercício). Amostras de urina foram coletadas nos tempos 0 (jejum), 60 e 135 min (Figura 1).

A glicemia e os níveis de lactato foram determinados pelo teste enzimático-colorimétrico e a análise foi feita pelo aparelho Roche Hitachi Cobas Mira (Roche, US). A insulina foi avaliada por quimiluminescência com auxílio do aparelho Immulite 2000 Immune Assay System (Siemens, US). Após as análises, foram calculadas a área incremental (iAUC) pelo método trapadoizal utilizando o software Prisma (Graphpad, US), para avaliar a glicemia, insulinemia e os níveis de lactato. As amostras de urinas foram armazenadas em freezer -20 °C. Foi realizada a determinação de nitrogênio urinário pelo Método de Kjeldal (AOAC, 1995).

Para mensuração de níveis dos marcadores do estresse oxidativo, amostras sanguíneas coletadas nos tempos 0 (jejum) e 105 min (após o exercício) foram utilizadas para avaliação da capacidade antioxidante total, da atividade enzimática superóxido dismutase e glutathione peroxidase, glutathione total, TBARS, 8-isoprostano e proteína carbonilada. Após a coleta das amostras sanguíneas, os tubos com heparina, foram centrifugados à 1000 x g à 4 °C por 10 minutos. O plasma foi retirado e armazenado à -80 °C até a realização das análises. As leituras de fotometria de placa foi realizada com auxílio do Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer (Thermo Scientific, Finland). Os testes descritos a seguir foram realizados conforme o protocolo do fabricante:

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi monitorada utilizando o Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman Chem Corp, MI), pela reação da xantina oxidase. Foi utilizado 10 µl de plasma e a leitura da absorvância foi feita à 460 nm.

O Glutathione Assay Kit (Cayman Chem Corp, MI) foi utilizado para quantificar os níveis de glutathione total (GSH), através da reação da glutathione com ácido nitrobenzóico (DTNB). Foi utilizado 50 µl de plasma e a leitura da absorvância foi feita à 405 nm.

A atividade da glutathione peroxidase (GPx) foi monitorada indiretamente pela reação com a glutathione redutase com o Glutathione Peroxidase Assay Kit (Cayman

Chem Corpo, MI). Foi utilizado 20 µl de plasma e a leitura da absorvância foi feita à 340 nm.

Para verificar a capacidade antioxidante total do plasma, foi utilizado o Antioxidant Assay Kit (Cayman Chem Corp, MI), que monitora a capacidade dos antioxidantes presentes no plasma em inibir a oxidação do ABTS (2,2'-azino-di-[3-etilbenzotiazolina sulfonato]) pela ação da metmioglobina. Foi utilizado 10 µl de plasma e a leitura da absorvância foi feita à 405 nm.

A oxidação de proteínas foi monitorada utilizando o Protein Carbonyl Colorimetric Assay Kit (Cayman Chem Corp, MI), pela reação de DNPH (2,4-dinitrofenil-hidrazina) com os grupos carbonil resultando na formação de 2,4-dinitrofenil(DNP)hidrazona. Foi utilizado 200 µl de plasma e a leitura da absorvância foi feita à 560 nm.

Com o auxílio do 8-Isoprostane Elisa Immune Assay Kit (Cayman Chem Corp, MI), pode-se quantificar a peroxidação lipídica do plasma. A reação de baseia na competição entre 8-isoprostano e um conjugado de acetilcolinesterase 8-isoprostano (8-isoprostano Tracer) para um número limitado de sítios de ligação de anti-soro específico de 8-isoprostano. Foi utilizado 50 µl de plasma e a leitura da absorvância foi feita à 405 nm.

Foi utilizado o TBARS Assay Kit (Cayman Chem Corp, MI) para verificar oxidação lipídica, através da reação entre malondialdeído e ácido tiobarbitúrico à 100 °C. Foi utilizado 100µl de plasma e a leitura da absorvância foi feita à 530 nm.

#### *Avaliação do desempenho físico*

Durante o exercício, os ciclistas realizaram no total 6 *sprints*. O desempenho físico dos ciclistas foi avaliado pela soma da distância percorrida em quilômetros durante cada um dos 6 *sprints*.

#### *Avaliação do metabolismo energético e da oxidação de substratos*

Após jejum de 10 horas, os ciclistas compareceram ao laboratório às 7 h da manhã, sem fazerem esforço físico. Eles permaneceram em repouso no laboratório durante 20 min, foram aferidas as medidas antropométricas e a composição corporal e então foram encaminhados para calorimetria indireta. Para mensuração do gasto energético, foi utilizado o analisador de gases VO2000 (Medical Graphics Corp., Saint Paul, US), conectado ao software Aerograph Breeze. A coleta dos gases foi feita

utilizando máscara bucal acoplada ao pneumotacógrafo externo de fluxo médio conectado por linhas de ar ao sensor interno de volume expirado do aparelho. Para evitar respiração via narinas, utilizamos um clip nasal. Antes do início de cada sessão experimental, o aparelho foi ligado por 30 minutos para aquecimento, tendo sido feito a auto calibração imediatamente antes de cada teste, conforme recomendações do fabricante.

#### *Avaliação antropométrica e da composição corporal*

O peso e a altura (WHO, 1995) foram aferidos com o auxílio de uma balança eletrônica digital, com capacidade de 150 kg e precisão de 50 g (Plenna) e um estadiômetro, com extensão de 2,1 m e escala de 0,5 cm (SECA). A composição corporal (massa livre de gordura e massa gorda) dos ciclistas foi avaliada por Radioabsorimetria de Feixes Duplos dos componentes corporais, utilizando o aparelho Lunar Densitometry (GE, US), software Encore 2010 (vs13.3). Esses dados foram utilizados para a caracterização da amostra.

#### *Avaliação do nível de atividade física e da ingestão alimentar*

O nível de atividade física foi avaliado por meio do uso do questionário IPAQ (International Physical activity Questionnaire) versão longa, proposto por Ainsworth et al. (2000), traduzido para o português e validado para a população brasileira por Pardini et al. (2001).

Para caracterização da amostra, os ciclistas foram submetidos ao teste de Consumo Máximo de Oxigênio ( $VO_{2max}$ ). O teste de  $VO_{2max}$  foi realizado em cicloergômetro ISO1000 (SCIFIT, Oklahoma, US), com carga inicial de 50 W, aumentada em 30 W a cada 1 minuto até a exaustão do ciclista.

A ingestão alimentar habitual foi avaliada por meio da aplicação de questionário semi-quantitativo de frequência alimentar, validado para população brasileira adulta (Ribeiro; Cardoso, 2002).

O plano alimentar fornecido a cada participante foi elaborado considerando a necessidade calórica diária de cada ciclista com base nos valores obtidos de metabolismo basal e no nível de atividade física avaliados antes do início do estudo.

Durante cada etapa, os ciclistas preencheram um registro alimentar de 24 h por 3 dias não consecutivos. Ao serem entregues ao final de cada etapa, esses registros foram revisados, para garantir a precisão das informações registradas. Os ciclistas foram

instruídos a preencherem os registros indicando as quantidades e as medidas caseiras dos alimentos ingeridos para garantir a adesão ao plano alimentar proposto. A ingestão calórica e de macronutrientes foram analisada utilizando o software DietPro® (versão 5.5i). Durante todo o estudo, os ciclistas foram instruídos manterem o mesmo padrão de prática de atividade física e hábito alimentar.

### *Análises estatísticas*

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SAS, versão 9.0 (SAS Institute Inc., 2000). Inicialmente, aplicou-se o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de igualdade de variâncias de Bartlett para a identificação dos testes estatísticos a serem empregados. O critério de significância estatística adotado foi  $p < 0.05$  ( $\alpha$  de 5%). Os dados são apresentados em média  $\pm$  erro padrão (EP).

O teste ANOVA de medidas repetidas, seguido por Tukey foi aplicado para detectar diferenças significativas na iAUC da glicemia, insulinemia e concentração de lactato, e no desempenho físico, entre os tratamentos. Foi aplicado o teste One-Way ANOVA para detectar diferenças entre grupos para médias de glicemia, insulinemia e concentrações de lactato. O teste ANOVA de Medidas Repetidas, seguido por Tukey foi aplicado para verificar a interação entre os fatores tempo e tratamento, para glicemia, insulinemia e concentração de lactato. ANOVA de Medidas Repetidas, seguido por Tukey, também foi aplicado para detectar diferenças no gasto energético total, na termogênese induzida pela dieta e na oxidação de substratos. Para detectar diferenças entre o primeiro e o oitavo dia foi aplicado o teste t de Student pareado.

Para detectar diferenças entre os níveis de marcadores do estresse oxidativo antes e após o exercício foi aplicado o teste t Student pareado. As diferenças entre os níveis de marcadores entre os tratamentos foi avaliada por análise de covariância (ANCOVA), com ajustes para comparação multivariada seguida por Tukey-Kramer, tendo os valores iniciais como covariáveis, uma vez que os valores iniciais diferiram entre os tratamentos.

## **Resultados**

O Índice de massa corporal (IMC), a composição corporal, a ingestão alimentar e o nível de atividade física apresentado pelos 10 ciclistas não diferiram entre as etapas e entre os dias 1º e 8º (Tabela 4).

A atividade da superóxido dismutase (SOD) aumentou após a realização do exercício em resposta à ingestão de soro de leite no primeiro dia em relação ao controle, e no oitavo dia em relação à soja e controle (Figura 2A). O consumo dos isolados proteicos de soro de leite e de soja aumentaram a atividade da glutathiona peroxidase (GPx) após o exercício no 8º dia. A GPx após o exercício também foi maior no 8º em relação ao 1º dia em respostas dessas proteínas. Além disso, se comparada ao controle, a concentração de GPx após o exercício, no 8º dia de ingestão dessas mesmas proteínas foi maior (Figura 2B).

As bebidas soro de leite e soja resultaram em maior concentração de glutathiona (GSH) após o exercício no 8º do que no 1º dia. No 8º dia de ingestão dos isolados proteicos de soro de leite e de soja, os níveis de GSH foram maiores se comparados ao controle (Figura 2C). A capacidade antioxidante total do plasma no 8º dia de ingestão da proteína da soja foi menor após do que antes do exercício (Figura 2D). As concentrações de proteína carbonilada não foram afetadas em função do tipo de proteína ingerida, dia de ingestão das proteínas testadas ou realização de exercício (Figura 2E).

As concentrações plasmáticas de 8-isoprostano, após o exercício, aumentaram no 8º em relação ao 1º dia em resposta a bebida controle. Essas concentrações após o exercício foram maiores no 1º e 8º dia da bebida controle do que após a ingestão das bebidas contendo isolado proteico do soro de leite e da soja (Figura 2F). Houve aumento das concentrações de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) no 1º e 8º dias após a realização do exercício para o Controle (Figura 2G).

A distância percorrida pelos ciclistas durante os *sprints* após a ingestão da bebida contendo isolado proteico de soro de leite foi maior no 8º dia se comparado ao 1º. Além disso, a distância percorrida no oitavo dia da etapa do soro de leite foi maior comparada a da soja e do controle nesse mesmo dia (Figura 3).

Houve interação entre tempo e tratamento para glicemia, insulinemia e concentração de lactato. A glicemia, a insulinemia e os níveis de lactato em jejum não diferiram entre as etapas (Tabela 5). As iAUCs de concentração de lactato, glicemia e insulinemia nos Dias 1º e 8º, não diferiram entre os tratamentos e não foram afetadas pelos tratamentos aplicados no estudo ( $p > 0.05$ ) (Figura 4A, 4B e 4C, respectivamente).

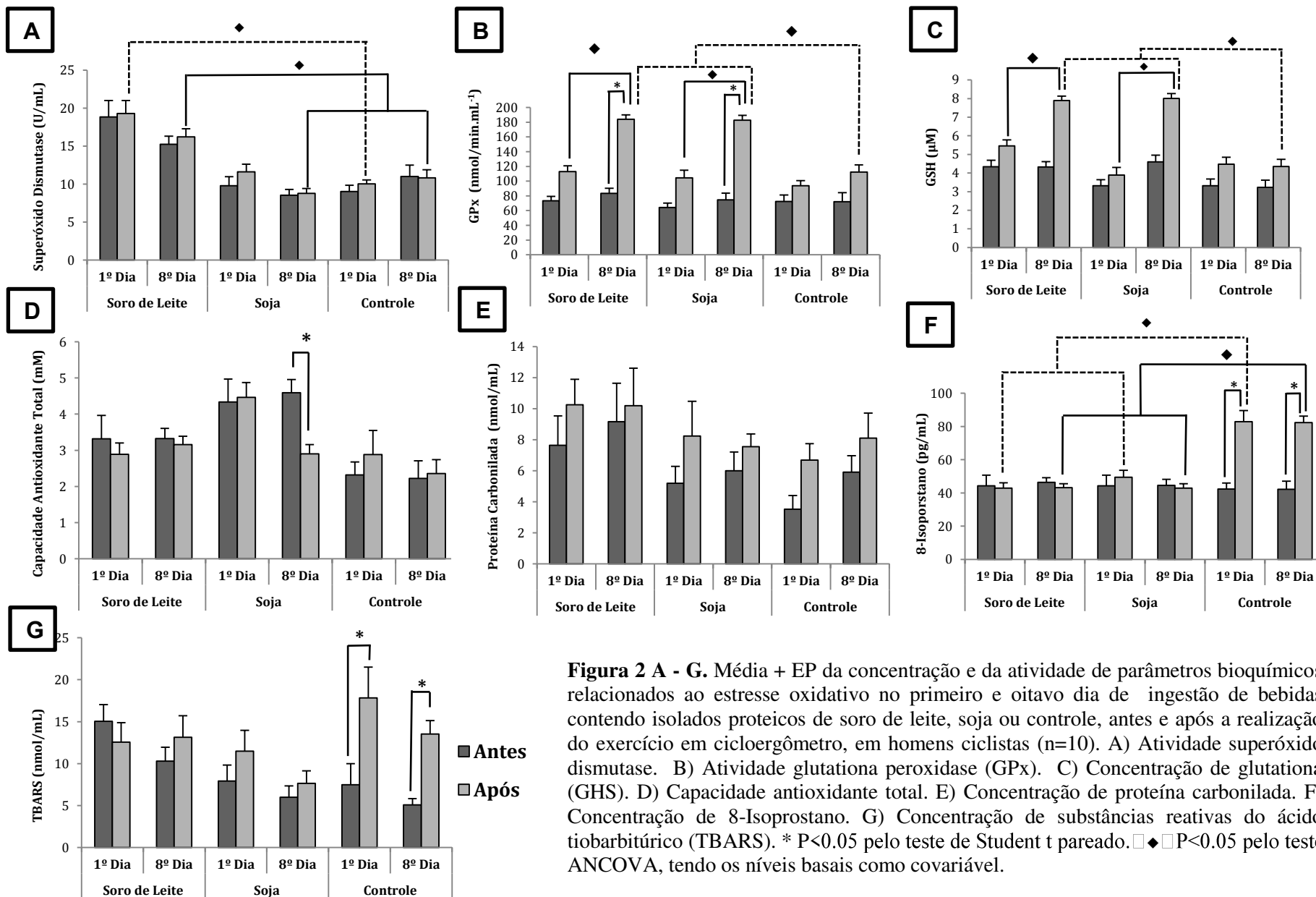
Em relação ao metabolismo energético, a TID (Figura 5A), o GET (Figura 5B), a TMR e a taxa de oxidação de carboidratos (Figura 6A) não foram afetados no estudo. Apesar da taxa de oxidação lipídica acumulada (145 min) não ter diferido entre os tratamentos, verificou-se aumento no oitavo dia após a ingestão de soro de leite

( $p < 0.05$ ), em relação ao primeiro (Figura 6B). O coeficiente respiratório total tanto do dia 1º e 8º da etapa Soro de Leite foi menor quando comparado ao da Soja nesses mesmos dias (Figura 7).

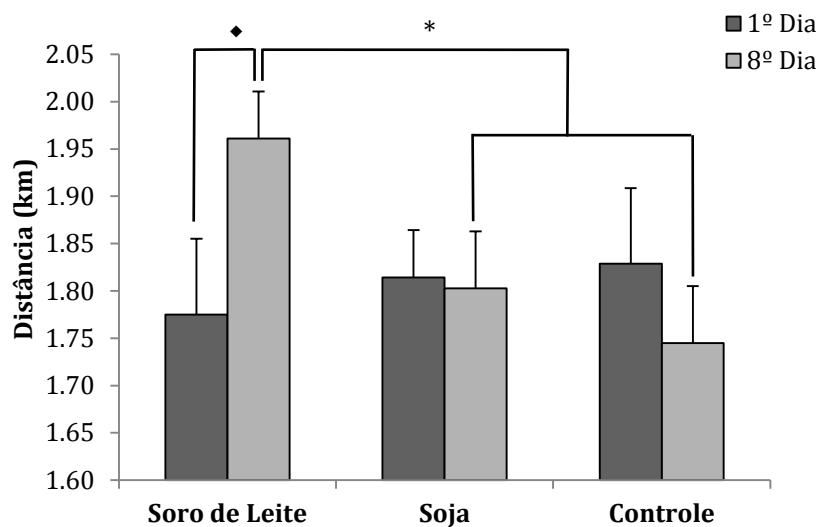
**Tabela 4.** Média  $\pm$  erro padrão das características basais de ciclistas treinados (n=10) participantes do estudo:

<b>Características</b>	<b>Valores apresentados</b>
Índice de massa corporal ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	22.83 $\pm$ 2.14
Gordura Corporal (%)	12.6 $\pm$ 3.5
VO <sub>2max</sub> ( $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	58.9 $\pm$ 2.3
Glicemia de Jejum (mmol/L)	4.49 $\pm$ 0.12
Insulina de Jejum (pmol/L)	19.2 $\pm$ 3.6
Colesterol Total (mg/dL)	165 $\pm$ 15
Triglicerídeos (mg/dL)	70 $\pm$ 1
HDL (mg/dL)	51.8 $\pm$ 3.2
LDL (mg/dL)	89.2 $\pm$ 7.1
VLDL (mg/dL)	13.7 $\pm$ 0.4

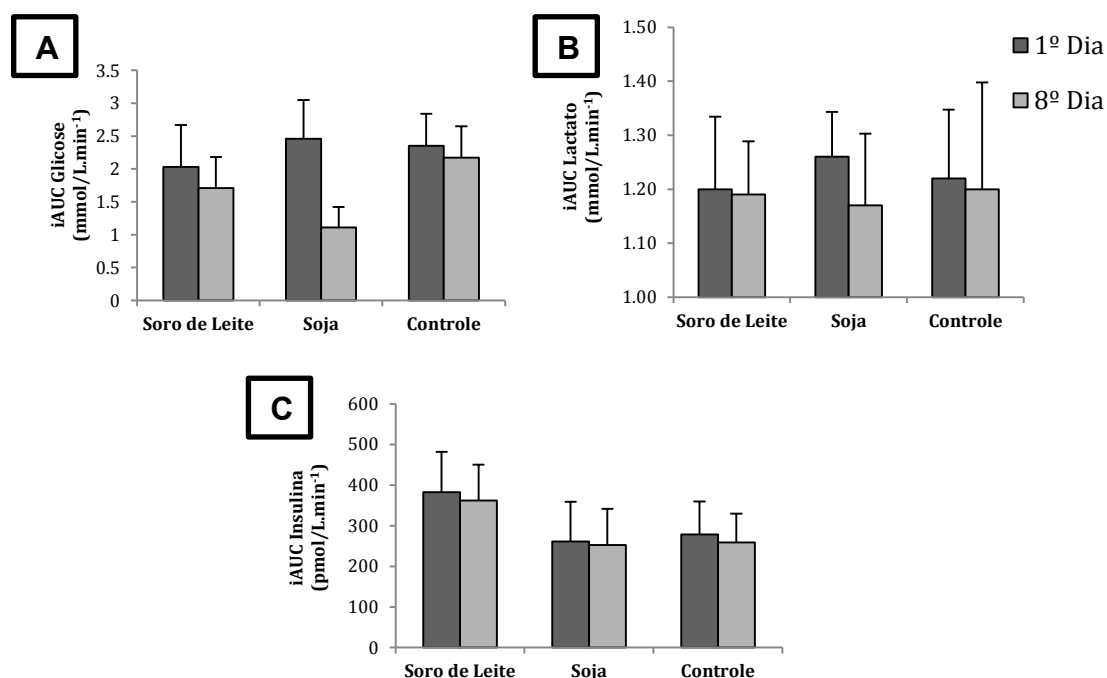




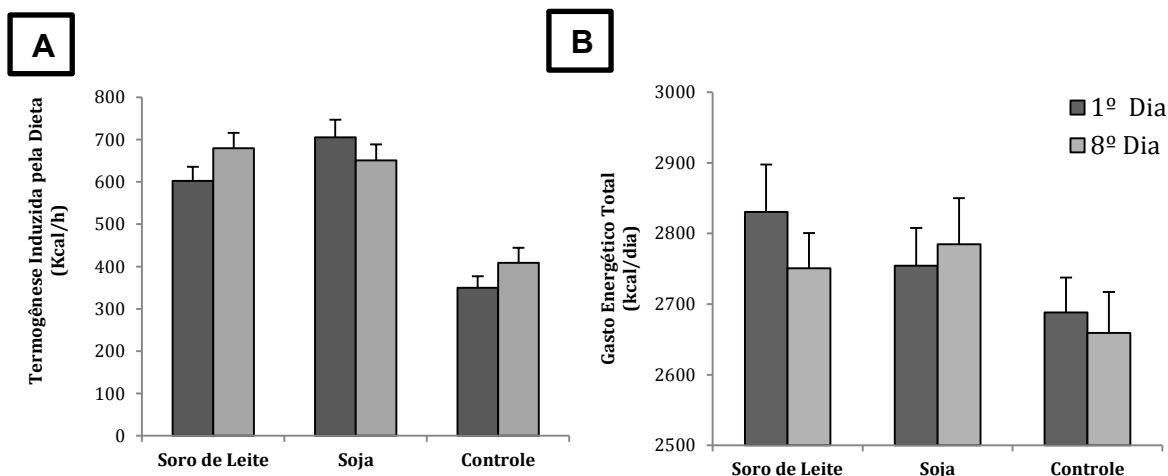




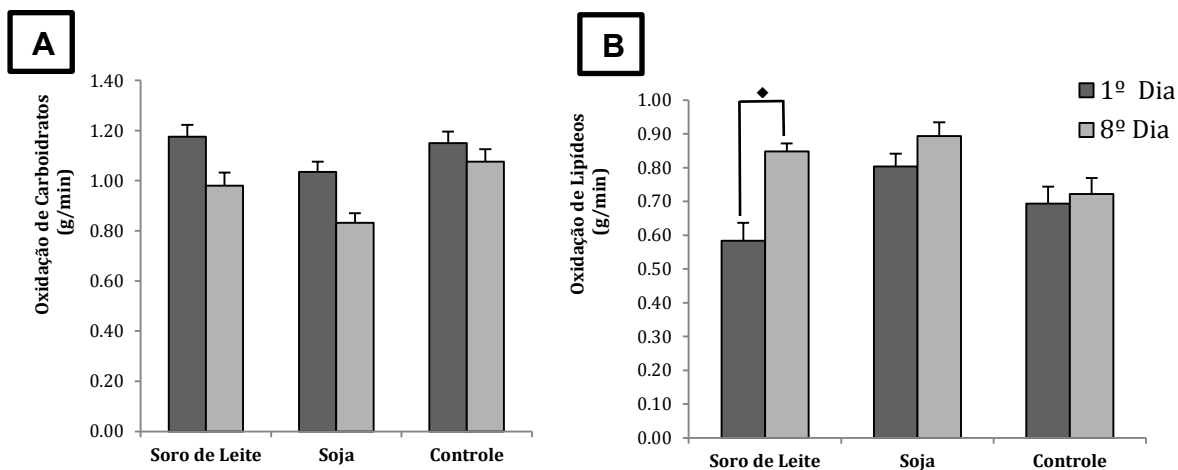
**Figura 3** – Média  $\pm$  EP da distância percorrida (km) pelos ciclistas, no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas contendo isolado proteico de soro de leite ou de soja, ou controle (n=10).  $p < 0.05$ , pelo ♦ Teste t pareado e \* Teste de Tukey.



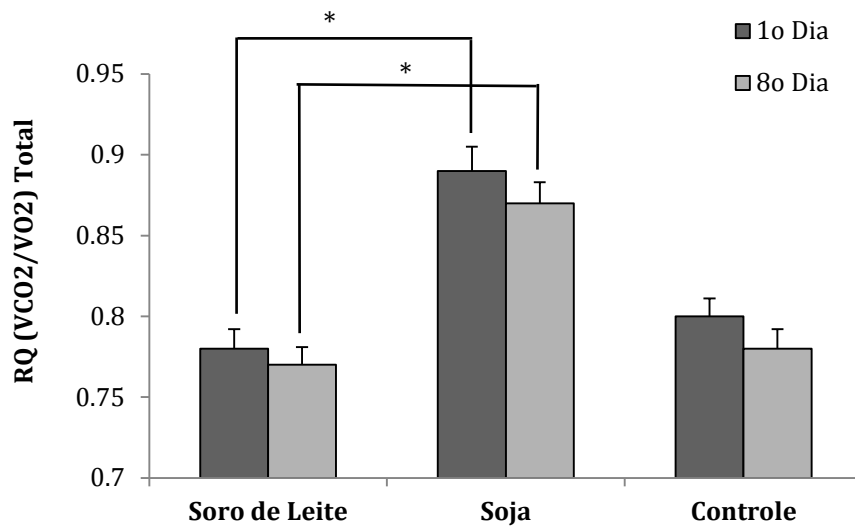
**Figura 4 A, B e C** – Média  $\pm$  EP da área incremental (iAUC) de A) concentração de lactato, B) glicose e C) insulina durante o protocolo de exercício, no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas contendo isolado proteico de soro de leite e de soja ou controle (n=10). Não foram verificadas diferenças ao final de cada tratamento (Teste t pareado) ou entre os tratamentos (Teste Anova Medidas Repetidas, seguido por Tukey) ( $p > 0.05$ ).



**Figura 5 A e B** – Média  $\pm$  EP da A) termogênese induzida pela dieta e do B) gasto energético total diário de ciclistas no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas contendo isolado proteico de soro de leite ou de soja, ou controle (n=10). Não foram verificadas diferenças ao final de cada tratamento (Teste t pareado) ou entre os tratamentos (Teste Anova Medidas Repetidas, seguido por Tukey) ( $p > 0.05$ ).



**Figura 6 A e B** – Média  $\pm$  EP da A) oxidação de carboidratos (g/min) e da B) oxidação de lipídeos (g/min) durante 145 min de protocolo, no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas contendo isolado proteico de soro de leite ou de soja, ou controle, em ciclistas treinados (n=10).  $\blacklozenge p < 0.05$  pelo teste t pareado.



**Figura 7** – Média  $\pm$  EP do coeficiente respiratório (RQ) durante 145 min de protocolo, no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas no primeiro e no oitavo dia de ingestão das bebidas contendo isolado proteico de soro de leite ou de soja, ou controle, em ciclistas treinados (n=10). \*p<0.05 pelo teste ANOVA Medidas Repetidas, seguido por Tukey.

**Tabela 5.** Média  $\pm$  erro padrão dos níveis de glicose, insulina e lactato em ciclistas durante o repouso e exercício no primeiro e oitavo dia de ingestão de bebidas contendo (soro de leite ou soja) ou não (controle) os isolados proteicos testados no estudo

Tempo/ Grupo	Dia 1						Dia 8						
	Repouso			Exercício			Repouso			Exercício			
	0	30	60	75	85	105	0	30	60	75	85	105	
Glicemia (mg/dL)	C	83.14 $\pm$ 1.7 a	73.14 $\pm$ 4.1 a	65.42 $\pm$ 3 a	82.57 $\pm$ 4 a	107.57 $\pm$ 7.7 a	115.71 $\pm$ 8.7 a	83 $\pm$ 2.4 a	85.83 $\pm$ 4.9 a	73.33 $\pm$ 3.3 a	85.83 $\pm$ 2.92 a	102.16 $\pm$ 5.7 a	108.66 $\pm$ 6.4 a
	SL	81.1 $\pm$ 2.2 a A	77.8 $\pm$ 4.4 a A	64.1 $\pm$ 4.0 a B	75 $\pm$ 4.3 ab AB	97.9 $\pm$ 7.2 a C	106.5 $\pm$ 6 a C	80.5 $\pm$ 1.9 a A	73.5 $\pm$ 4.7 a AB	63.5 $\pm$ 3.8 b B	72 $\pm$ 4.1 b AB	93.44 $\pm$ 4.9 a C	106.22 $\pm$ 6.8 a C
	S	80.28 $\pm$ 1.1 a A	72.5 $\pm$ 3.7 a A	79.12 $\pm$ 8.6 ab A	71.28 $\pm$ 4.78 b B A	95.875 $\pm$ 5.08 a B	109.75 $\pm$ 7.31 a B	82 $\pm$ 2.7 a A	82 $\pm$ 6.3 a A	56.66 $\pm$ 4.6 b B	82.33 $\pm$ 6.8 ab A	104 $\pm$ 6.3 a C	100.25 $\pm$ 9 a AC
Insulinemia (uU/mL)	C	2.65 $\pm$ 0.7 a A	29.98 $\pm$ 9 a B	10.48 $\pm$ 2.9 a A	3.6 $\pm$ 1.3 a A	9.25 $\pm$ 1.9 a A	8.6 $\pm$ 2 a A	3.61 $\pm$ 0.7 a A	40.31 $\pm$ 17.3 a B	12.2 $\pm$ 3.8 a A	6.88 $\pm$ 3 a A	12.26 $\pm$ 2 a A	11.66 $\pm$ 1.8 a A
	SL	3.56 $\pm$ 1 a A	33.16 $\pm$ 12.2 a B	21 $\pm$ 5.4 ab B	9.46 $\pm$ 1.3 b A	11.37 $\pm$ 2.8 a A	7.8 $\pm$ 1.7 a A	3.06 $\pm$ 0.3 a A	23.66 $\pm$ 5.9 b B	19.67 $\pm$ 2.5 ab B	6.61 $\pm$ 1.9 a A	15.02 $\pm$ 3 a AB	10.7 $\pm$ 2.1 a AB
	S	6.4 $\pm$ 2.7 a A	7.92 $\pm$ 2.3 b A	15.45 $\pm$ 3 a B	5.7 $\pm$ 2.2 ab A	10.11 $\pm$ 3 a AB	12.28 $\pm$ 2.5 a AB	2.925 $\pm$ 0.6 a A	5.7 $\pm$ 0.8 c AB	10.46 $\pm$ 3.1 a B	8.43 $\pm$ 2.6 a AB	4.15 $\pm$ 1 b A	12.47 $\pm$ 2 a B
Lactato (mmol/L)	C	-	-	1.75 $\pm$ 0.2 a A	2.01 $\pm$ 0.1 a A	10.26 $\pm$ 0.2 a B	9.18 $\pm$ 1.7 a B	-	-	1.35 $\pm$ 0.1 a A	3.23 $\pm$ 1.2 a A	8.22 $\pm$ 0.8 a B	10.8 $\pm$ 1.9 a B
	SL	-	-	1.93 $\pm$ 0.1 a A	2.2 $\pm$ 0.3 a A	10.35 $\pm$ 1.3 a B	12.23 $\pm$ 1.5 a B	-	-	1.98 $\pm$ 0.2 a A	2.48 $\pm$ 0.4 a A	10.41 $\pm$ 1.1 a B	12.75 $\pm$ 1.8 a B
	S	-	-	1.64 $\pm$ 0.1 a A	2.68 $\pm$ 0.7 a A	9.95 $\pm$ 1.4 a B	10.48 $\pm$ 2.2 a B	-	-	1.26 $\pm$ 0.1 a A	2.26 $\pm$ 0.5 a A	9.03 $\pm$ 0.5 a B	11.7 $\pm$ 2.2 a B

Letras maiúsculas distintas na mesma linha indicam diferença estatística pelo teste ANOVA One-Way, seguido pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ). Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença

## Discussão

Verificamos um maior efeito antioxidante da proteína do soro de leite em relação à da soja. Resultados semelhantes foram verificados em um estudo realizado *in vitro* (Kerasioti et al., 2014).

A superóxido dismutase (SOD) é uma enzima endógena da linha de frente da defesa antioxidante, que elimina os radicais superóxidos ( $O_2^-$ ) dismutando-os em oxigênio ( $O_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (Batinic-Harbele et al., 2010). Verificamos em nosso estudo, um aumento de 192 % da atividade da enzima SOD após o exercício no primeiro dia de ingestão da bebida contendo isolado proteico de soro de leite em relação ao controle. Esse aumento, no oitavo dia do estudo, correspondeu a 185 %, em relação à soja e 150 % comparado ao controle em ciclistas treinados (Figura 2A). Xu et al. (2011) observaram que ao tratarem mioblastos C2C12 com soro de leite, a atividade da SOD aumentou em 144 % relação às células controle e 222 % às células induzidas ao estresse por  $H_2O_2$ . Em um estudo realizado em ratos submetidos à natação até a fadiga, os autores verificaram que ao suplementarem 1,5 g/kg de peso corporal de isolado ou hidrolisado proteico de soro de leite, por 6 semanas, o hidrolisado aumentou a atividade da SOD mitocondrial em relação a dieta controle (Liu et al., 2014). Em outros dois estudos com ratos não obesos com resistência insulínica, em repouso, os autores constataram que a suplementação com soro de leite por 8 semanas, aumentou a atividade da SOD em relação ao controle (Tong et al., 2014; Tong et al., 2011). Até onde pudemos verificar ainda não foi publicado nenhum estudo envolvendo humanos, em que se avaliou a atividade da SOD após o consumo de proteínas. Nossos resultados confirmam aqueles observados por outros autores e sugerem um efeito superior do soro de leite em relação à soja em estimular a atividade da SOD desde o primeiro dia de sua ingestão.

A glutathiona peroxidase (GPx) é uma enzima antioxidante, que reduz o  $H_2O_2$  produzido pela ação da SOD à água. Segundo alguns autores há uma redução de 29.3 % na atividade desta enzima em resposta ao ciclismo (Córdova et al., 2014). Em nosso estudo, verificamos que em ciclistas treinados a ingestão de isolados proteicos de soro de leite e de soja, durante 8 dias, aumentaram a atividade da GPx em 163 % e 175 %, respectivamente, em relação ao primeiro dia e 163 % e 162 %, respectivamente, em relação ao controle (Figura 2B). Nossos resultados sugerem um efeito positivo da

ingestão das proteínas de soro de leite e de soja em aumentar a atividade da GPx, para prevenir o dano causado pela alta produção de espécies reativas de oxigênio após a realização de exercícios. Em estudo conduzido em células musculares C2C12 induzidas ao estresse, os autores verificaram aumento da atividade da GPx, após serem tratadas com soro de leite (Xu et al., 2011). Os autores de outro estudo verificaram que somente os hidrolizados de soro de leite foram capazes de aumentar a atividade da GPx mitocondrial, em ratos nadadores (Liu et al., 2014). Esse resultado sugere que a velocidade de digestão pode afetar o efeito antioxidante exercido pela proteína ingerida. Contudo, em nosso estudo, ambos os isolados utilizados resultaram em aumento da GPx. Ainda são escassos os estudos em que se avaliou o efeito dessas proteínas em humanos na atividade da GPx.

A glutathiona (GSH) é um cofator de enzimas antioxidantes, como a da GPx. A GSH é um tiol composto pela cisteína, glutamato e glicina e atua no sistema antioxidante celular por doar um átomo de hidrogênio a uma variedade de espécies reativas, formando, por exemplo,  $H_2O_2$  para que a GPx os elimine (Ribas et al., 2014). Em nosso estudo, verificamos que oito dias de ingestão dos isolados proteicos de soro de leite e de soja, foram capazes de aumentar a concentração de GSH em 144 % e 206 %, respectivamente, em relação ao primeiro dia. Em relação ao controle, a GSH aumentou em 181 % e 184 %, em resposta ao soro de leite e a soja respectivamente (Figura 2 C). Xu et al. (2011) verificaram que ao tratarem células musculares C2C12 com soro de leite, as concentrações de GSH aumentaram em 341 %, ao serem induzidas ao estresse por  $H_2O_2$ . Kerasioti et al. (2014) também observaram aumento de 138 % nas concentrações de GSH, em células musculares C2C12 induzidas ao estresse por hidroperóxido de tetrabutyl, tratadas com soro de leite. Acredita-se que o teor intracelular de cisteína determine a síntese de GSH. Há uma competição desse aminoácido para síntese de proteína ou de GSH, quando os níveis intracelulares de cisteína estão baixos, a síntese proteica é favorecida (Xu et al., 2011). Então, quando ocorre a ingestão de proteínas ricas em cisteína, como as proteínas do soro de leite e da soja, há um estímulo para a produção de GSH (Walzem et al., 2002). Entretanto, em um estudo realizado com ciclistas treinados, o consumo de uma refeição contendo 0.28 g/kg de peso corporal de soro de leite, durante um protocolo de exercício exaustivo e intermitente não foram verificadas alterações nas concentrações de GSH eritrocitária (Kerasioti et al., 2012).



Verificamos que a capacidade antioxidante total do plasma diminuiu após o exercício no oitavo dia de ingestão de bebida contendo isolado proteico de soja. Esse efeito não foi verificado em resposta à ingestão da bebida controle (Figura 2D). Considerando que a proteína de soja contém peptídeos altamente bioativos com ação antioxidante (Castro; Sato et al., 2014), esse resultado foi inesperado. Não houve diferença antes e após o exercício, e entre o primeiro e oitavo dias para os demais tratamentos. O aumento da capacidade antioxidante total do plasma, em relação ao grupo controle, em ratos em repouso, suplementados com 15 % de soro de leite foi constatado em dois outros estudos (Tong et al., 2014; Tong et al., 2011). Ao suplementar 9 levantadores de peso com aproximadamente 0,4 g de proteína /kg de peso de proteína de soja ou soro de leite por 9 semanas, a capacidade antioxidante total do plasma foi maior, após o exercício, no grupo da soja em relação ao do soro de leite e ao controle (Brown et al., 2004). Os participantes do presente estudo ingeriram durante 8 dias consecutivos bebidas contendo 0,5 g de proteína /kg de peso de proteína de soro de leite. É possível que em humanos os efeitos benéficos na capacidade antioxidante total do plasma só sejam observados quando a ingestão desses tipos de isolados proteicos é feita por um período de tempo maior.

As proteínas carboniladas, produtos da oxidação das proteínas ou de resíduos de aminoácidos, podem inativar a função das proteínas presentes em cultura de células, como por exemplo em miócitos, impedindo a contração muscular apropriada durante o exercício (Barreiro; Huassin et al., 2010) ou até mesmo levar à apoptose celular (Dalle-Donne et al., 2006). No presente estudo, os níveis de proteínas carboniladas não foram afetados (Figura 2E). Em um estudo com ratos a suplementação de proteína de soro de leite ou soja, ou a combinação das duas, por 6 semanas, também não alteraram os níveis de proteína carbonilada (Elia et al., 2006). Esses resultados sugerem que as proteínas da soja e do soro de leite podem não exercer efeitos na carbonilação das proteínas ou de resíduos de aminoácidos.

Durante a realização de exercícios, há um aumento da produção de substâncias reativas de oxigênio, que podem reagir com os ácidos graxos presentes nas membranas celulares e intracelularmente, ocorrendo a peroxidação lipídica. O isoprostano é uma substância semelhante às prostaglandinas resultante da peroxidação do ácido araquidônico (Bierbern et al., 2012). A avaliação da concentração de isoprostano tem sido o método recomendado para se verificar a ocorrência de peroxidação lipídica (Montuschi et al., 2004). Em nosso estudo, constatamos que após a ingestão da bebida

controle, os níveis de 8-isoprotano aumentaram significativamente após o exercício. Ao primeiro dia, os níveis aumentaram 196 % e ao oitavo 195 %, após o exercícios. Se compararmos a resposta obtida para o controle em à do soro de leite, houve aumento de 193 % ao primeiro dia e 190 % ao oitavo dia do estudo. Em relação à soja, os níveis aumentaram em 167 % ao primeiro dia e 191 % ao oitavo dia. Em um estudo, envolvendo ciclistas treinados, foi observado que, após a prática do ciclismo os níveis urinários de F2-isoprostano aumentou em 191 % (Córdova et al., 2014). Esses resultados demonstram o poder antioxidante das proteínas de soro de leite e da soja em prevenir a peroxidação lipídica em ciclistas treinados, em resposta ao exercício. Uma vez que observamos que as proteínas do soro de leite aumentaram a atividade da SOD, e as do soro de leite e da soja aumentaram a atividade da GPx e as concentrações de GSH, podemos inferir que ao fortalecerem o sistema antioxidante, este por sua vez, foi capaz de eliminar mais espécies reativas de oxigênio produzidas durante o exercício, impedindo assim a reação dessas espécies em oxidar os ácidos graxos.

Além dos isoprostanos, o aumento da produção de espécies reativas pode ser refletido pelo aumento dos níveis de TBARS (Cubrilo et al., 2011). Esse resultado foi constatado em nosso estudo, já que houve aumento significativo da concentração de TBARS após o exercício após a ingestão da bebida controle, tanto no primeiro quanto no oitavo dia (Figura 2G). Por outro lado, as proteínas do soro de leite e da soja foram capazes de impedir o aumento da peroxidação lipídica, já que os níveis de TBARS não aumentaram em resposta ao exercício. Resultados semelhantes foram constatados em ratos treinados após a adição de 20 % proteína de soja (Nikawa et al., 2002). Em contrapartida, a adição de 20 % de isolado proteico de soja a dieta de ratos não alterou os níveis de TBARS após o exercício, se comparado à caseína (Nikawa et al., 2002). Os resultados desses estudos sugerem que a caseína exerça efeito semelhante ao da soja e do soro de leite em impedir o aumento da peroxidação lipídica em resposta ao exercício.

Em outro estudo, em que não houve realização de exercício, a proteína do soro de leite se destacou em relação à da soja em corredoras. O consumo, por 6 semanas, de aproximadamente 0,87 g de proteína/kg de peso corporal, de proteína do soro de leite diminuiu os níveis de TBARS em relação àqueles após o consumo da soja (Tara et al., 2013). O uso dessas proteínas para ciclistas pode ser uma estratégia interessante, para prevenir o aumento da peroxidação lipídica durante e, principalmente, após o exercício, momento quando os níveis de moléculas reativas oxidantes estão em maior concentração (Cubrilo et al., 2011).

Entretanto, em vários outros estudos foi verificada a diminuição da peroxidação lipídica após a suplementação com o soro de leite e a soja, tanto em ratos quanto em humanos (Taniguchi et al., 2000; Kerasioti et al., 2012). Em um estudo em crossover, observou-se a redução dos níveis de TBARS em 9 ciclistas altamente treinados, submetidos a um protocolo de exercício exaustivo e intermitente em um cicloergômetro após a ingestão de um bolo isocalórico contendo soro de leite em relação ao controle (Kerasioti et al., 2012). Em outros estudos realizados em ratos, a adição de 10% de isolado proteico de soja diminuiu a peroxidação lipídica no fígado (Taniguchi et al., 2000). Em estudos com células musculares C2C12, o tratamento com isolado de soro de leite diminuiu a peroxidação lipídica induzida (Kerasioti et al., 2014; Xu et al., 2011). Nossos resultados sugerem que a proteína de soro de leite, possui maior atividade antioxidante em relação à soja, após o exercício. Entretanto, seria interessante a condução de outros estudos, em humanos, para verificar os efeitos de diferentes tipos de proteínas sobre o estresse oxidativo durante e/ou após uma atividade física.

A ingestão proteica adequada favorece o desempenho esportivo, por promover o reparo do dano muscular causado pelo exercício, proporcionando adaptação muscular ao tipo de exercício realizado (Hill et al., 2013; Cox et al., 2010) e por auxiliar a reposição de glicogênio pós-exercício (Alghannam, 2011; Bernardi et al., 2006; Ivy et al., 2002). Os resultados de alguns estudos mostraram efeito positivo de proteínas (soja, albumina, soro de leite) em relação aos carboidratos sobre o desempenho em ciclistas (McLeave et al., 2011; Ferguson-Stegall et al., 2010; Saunders et al., 2009; Valentine et al., 2008; Rowland et al., 2008; Saunders et al., 2004; Ivy et al., 2003). Entretanto, tais efeitos benéficos não foram observados em todos os estudos (Breen et al., 2010; Toone; Betts, 2010; Jeukendrup et al., 2009; Osterbeg et al., 2008). Pouco se sabe sobre o efeito dos diferentes tipos de proteínas neste sentido. Até onde pudemos verificar, o nosso estudo é o primeiro estudo em que se compara o efeito da qualidade proteica no desempenho em um protocolo de exercício com ciclistas.

Verificamos um aumento da distância percorrida durante os *sprints* no oitavo dia de consumo da bebida contendo isolado do soro de leite (Figura 2). Dentre as proteínas testadas neste estudo, a proteína do soro de leite é aquela que apresenta maior teor de aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) (Tabela 3). A suplementação de AACR (Leucina, Isoleucina e Valina) resultou no aumento das reservas de glicogênio (Campos et al., 2011), no aumento da biogênese mitocondrial (Valerio et al., 2011) e na melhora do desempenho físico em modelos experimentais (Falavigna et al., 2012; Cermack et

al., 2009). Assim, é possível que o aumento do desempenho verificado após 8 dias consecutivos de consumo do soro de leite esteja associado ao seu alto teor desses aminoácidos, especialmente de Leucina (Tabela 3).

A Leucina é um aminoácido cetogênico, que estimula a produção da glicose pelo ciclo glicose-alanina durante o exercício (Wagenmakers, 1998). A alanina é metabolizada no músculo, pela ação da aminotransferase de aminoácido de cadeia ramificada, fazendo com que seu grupo amino seja transferido ao  $\alpha$ -cetoglutarato, resultando na formação de glutamato. O glutamato por sua vez é transaminado pela piruvato aminotransferase, originando alanina, que ao ser metabolizada no fígado dá origem a glicose (Brosnan; Brosnan, 2006). A glicose é o principal substrato energético utilizado em quase todos os tipos de exercício. A manutenção dos níveis glicêmicos adequados é necessária, em especial durante a realização dos exercícios de alta intensidade e longa duração (ACSM; SBME, 2009).

No presente estudo, a concentração de lactato durante o exercício não foi afetada (Figura 3). Uma das causas da fadiga periférica é o acúmulo de lactato no músculo. O lactato é produzido durante a realização de um exercício de alta intensidade e curta duração, como um Sprint, quando a oferta de oxigênio como receptor final de elétrons está deficiente (anaerobiose), o NADH+H produzido, transfere os elétrons de hidrogênio ao piruvato reduzindo-o a ácido láctico pela ação da lactato desidrogenase. Esse lactato produzido é convertido novamente a piruvato na mitocôndria, para produção de ATP ou de glicogênio (Gladden, 2004). Quando a produção de lactato excede a capacidade orgânica de conversão do mesmo em piruvato ou em glicogênio, há fadiga e dor muscular, diminuindo o desempenho (Gladden, 2008).

No entanto, em um estudo envolvendo ratos treinados, a ingestão de proteínas do soro de leite diminuiu os níveis de lactato desidrogenase e aumentou o tempo de exercício, se comparado ao grupo controle em que houve apenas a realização de exercício (Chen et al., 2014). A suplementação de AACR aumentou a resistência à fadiga periférica também ratos treinados (Campos-Ferraz et al., 2013; Falavigna et al., 2012). Em um estudo realizado com corredores após a realização de um exercício intenso (86 km para homens e 64 km para mulheres), verificou-se que a ingestão de uma bebida contendo 0,8% AACR (2500 ml/dia) reduziu a sensação de dor muscular e os níveis de lactato desidrogenase, em comparação a uma solução placebo (Matsumoto et al., 2009). Esses resultados reforçam o efeito da proteína do soro de leite sobre a resistência à fadiga e o desempenho. É possível que o benefício observado após a

ingestão proteica seja intensificado pelos AACR presentes nessas proteínas. Entretanto, mais estudos em humanos precisam ser conduzidos para confirmar esse efeito sobre a resistência à fadiga e nos demais parâmetros de desempenho em atletas.

Verificou-se no presente estudo, que o consumo de soro de leite por indivíduos eutróficos manteve constantes os glicêmicos. Resultados semelhantes foram verificados em outro estudo (Ton et al., 2014) envolvendo humanos. Acredita-se que as proteínas, especialmente a de soro de leite e de soja, têm a capacidade de modular o metabolismo de glicose (Ton et al., 2014), evitando a ocorrência de picos glicêmicos seguidos de queda acentuada na glicemia, comprometendo a oferta adequada de glicose ao músculo durante o exercício, diminuindo o desempenho. Além disso, os AACR e a lisina exercem efeito insulínico (Nilsson; Bjorck 2007). Dentre as proteínas testadas no presente estudo, a proteína do soro de leite é aquela que apresenta maior teor de lisina (Tabela 3). Entretanto, os tratamentos aplicados neste estudo não afetaram as respostas glicêmica e insulínica em relação ao controle (Figura 4 e 5, respectivamente). Acreditamos que esse efeito esteja associado ao fato do leite em pó (fonte de soro de leite) ter sido utilizado como um dos ingredientes da bebida controle.

As proteínas podem aumentar a termogênese induzida pela dieta (TID), contribuindo assim para aumentar o gasto energético total (GET) (Alfenas et al., 2010; Halton; HU 2004; Jonhston et al., 2002; Karst et al., 1984; Nair et al., 1983). Esse efeito pode contribuir para a redução do teor de gordura corporal e desta forma contribuir para a obtenção de uma composição corporal mais adequada. Em um estudo em crossover, 23 homens e mulheres eutróficos ingeriram bebidas isocalóricas de caseína, soro de leite ou soja. Verificou-se que o soro de leite aumentou significativamente a TID em relação à caseína e à soja (Acheson et al., 2011). Em outro estudo em crossover, realizado com 24 homens e mulheres eutróficos, a oferta de desjejum contendo 0,5 g/kg de peso de soro de leite, caseína, soja ou controle durante 7 dias consecutivos resultou em maior TID após o consumo de soja, se comparada ao soro de leite (Alfenas et al., 2010).

Entretanto, até o momento não foram publicados estudos em que se avaliou o efeito do consumo de diferentes fontes proteicas no metabolismo energético, quando as mesmas são consumidas antes da realização de um protocolo de exercício de endurance, especificamente ciclismo. Em nosso estudo, o GET e a TID (Figura 6 e 7, respectivamente) não diferiram ao final de cada etapa ou entre os tratamentos. Semelhantemente a esse resultado, Lorenzen et al. (2012) não detectaram diferenças significativas na TID, em um estudo em crossover com 22 homens com sobrepeso após

a ingestão de desjejum contendo caseína, soro de leite e leite. Embora as proteínas resultem em maior resposta termogênica em relação aos carboidratos e lipídeos, o efeito de diferentes fontes proteicas nesse tipo de resposta ainda precisa ser melhor investigado.

A oxidação de lipídeos durante o protocolo do nosso estudo foi maior após 8 dias de consumo da bebida contendo isolado proteico de soro de leite (Figura 8). Esse resultado sugere que o consumo da proteína do soro de leite pode promover a redução do teor de gordura corporal, efeito este desejável para ciclistas iniciantes e que não apresentam composição corporal adequada. Quando desejável, a perda de peso em atletas deve promover a perda principalmente de massa gorda, preservando ao máximo a massa magra para que o desempenho não seja afetado (Garthe et al., 2011; Phillips; Van Loon 2011). A ingestão de soro de leite e não de soja mostrou-se eficaz na redução de gordura corporal em indivíduos sobrepesos e obesos (Baer et al., 2011) e em eutróficos (Voleck et al., 2013). Além disso, Voleck et al. (2013) verificaram maior aumento de massa magra no grupo suplementado com soro de leite do que com soja. Em outro estudo realizado com 16 mulheres atletas de basquetebol, suplementadas com soro de leite ou caseína durante 8 semanas, o ganho de massa magra e perda de gordura foram maiores em resposta ao soro de leite (Colin et al., 2013).

Durante o exercício aeróbico, o principal substrato energético, em exercícios de intensidade moderada, são os ácidos graxos. Na medida em que se aumenta a intensidade do exercício, a oxidação lipídica diminui e aumenta a oxidação de carboidratos (González-Haro, 2011). Esse efeito para o exercício de endurance é desejado, pois a exemplo no ciclismo, a ingestão de soro de leite, pode poupar a glicose para momentos de alta intensidade, como em uma subida ou *sprint*, melhorando o desempenho dos atletas. Entretanto, a oxidação de carboidratos não foi afetada no presente estudo (Figura 9). O consumo de soro de leite, soja ou caseína não afetou a oxidação lipídica em resposta ao consumo de diferentes tipos de proteínas por indivíduos eutróficos ou com sobrepeso (Acheson et al., 2011; Alfenas et al., 2010). Em contrapartida, Lorenzen et al. (2012) verificaram que a oxidação lipídica após o consumo da proteína do soro de leite foi menor se comparado à da caseína.

Os nossos resultados de oxidação lipídica foram semelhantes aos do coeficiente respiratório (RQ) após o consumo de soro de leite foi menor nos Dias 1 e 8, comparados ao consumo da soja nesses mesmos dias (Figura 10). Os valores de RQ refletem o tipo

de substrato preferencialmente oxidado. Assim, a obtenção de RQ correspondente a 0,7 indica a ocorrência preferencial de oxidação lipídica (Fauci et al., 2005). No presente estudo, o RQ médio obtido nos Dias 1 e 8, respectivamente, corresponderam a 0.78 e 0.77 para o soro de leite, e 0.89 e 0.87 para a soja. Esse resultado confirma mais uma vez o maior potencial do soro de leite em relação à proteína do soro em promover oxidação lipídica. O RQ médio obtido no oitavo dia de ingestão da bebida contendo soro de leite foi significativamente menor que o obtido para soja. Alfenas et al. (2010) também constataram valores menores de RQ após o consumo de soro de leite do que da soja. Destaca-se também que no presente estudo, o RQ médio obtido no oitavo dia de ingestão do soro de leite apresentou uma pequena redução em relação ao primeiro dia. Segundo alguns autores, quanto mais baixo o RQ maior é a energia gasta com a metabolização dos macronutrientes (Diener, 1997; Giodano & Castellino, 1997). Diante disto, conclui-se que no presente estudo o gasto energético para metabolização do soro do leite é maior que aquele observado para metabolização da proteína da soja.

## **Conclusão**

A ingestão de bebida contendo isolado proteico de soro de leite, por oito dias consecutivos aumentou a atividade da superóxido dismutase em relação a soja e ao controle. Tanto a proteína de soro de leite, quanto a de soja aumentaram a atividade da glutatona peroxidase e as concentrações de glutatona. Ainda, preveniram o aumento da peroxidação lipídica após o exercício.

O consumo da proteína do soro de leite por 8 dias consecutivos, aumentou a oxidação lipídica e o desempenho físico e em ciclistas treinados em relação ao controle e a soja. O coeficiente respiratório no primeiro e no oitavo dias de consumo do soro de leite foi menor em relação ao observado para a proteína soja.

## Referências Bibliográficas

ACKER, L.; CADENAS, E.; DAVIES, K. J. Free radicals and exercise: an introduction. **Free Radic Biol Med**, v. 44, n. 2, p. 123-5, Jan 15 2008. ISSN 0891-5849 (Print) 0891-5849.

AINSWORTH, B. E. et al. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 9 Suppl, p. S498-504, Sep 2000. ISSN 0195-9131 (Print) 0195-9131.

AKHAVAN, T. et al. Effect of premeal consumption of whey protein and its hydrolysate on food intake and postmeal glycemia and insulin responses in young adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 91, n. 4, p. 966-975, April 1, 2010 2010. Disponível em: < <http://ajcn.nutrition.org/content/91/4/966.abstract> >.

ALGHANNAM, A. F. Carbohydrate-protein ingestion improves subsequent running capacity towards the end of a football-specific intermittent exercise. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 36, n. 5, p. 748-57, Oct 2011. ISSN 1715-5312 (Print).

AOI, W. et al. Dietary whey hydrolysate with exercise alters the plasma protein profile: a comprehensive protein analysis. **Nutrition**, v. 27, n. 6, p. 687-92, Jun 2011. ISSN 0899-9007.

BAER, D. J. et al. Whey protein but not soy protein supplementation alters body weight and composition in free-living overweight and obese adults. **J Nutr**, v. 141, n. 8, p. 1489-94, Aug 2011. ISSN 0022-3166.

BARREIRO, E.; HUSSAIN, S. N. Protein carbonylation in skeletal muscles: impact on function. **Antioxid Redox Signal**, v. 12, n. 3, p. 417-29, Mar 2010. ISSN 1523-0864.

BATINIC-HABERLE, I.; REBOUCAS, J. S.; SPASOJEVIC, I. Superoxide dismutase mimics: chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. **Antioxid Redox Signal**, v. 13, n. 6, p. 877-918, Sep 15 2010. ISSN 1523-0864.

BEERMANN, C. et al. Anti-oxidative capacity of enzymatically released peptides from soybean protein isolate. **European Food Research and Technology**, v. 229, n. 4, p. 637-644, 2009/08/01 2009. ISSN 1438-2377. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1093-1>>.

BIRBER, E.; et al. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **WAO Journal**, v. 5, p. 9–19, 2012.

BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medical Science Sports Exerc**, v. 14, n. 5, p. 377-81, 1982.

BREEN, L.; TIPTON, K. D.; JEUKENDRUP, A. E. No effect of carbohydrate-protein on cycling performance and indices of recovery. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 6, p. 1140-8, Jun 2010. ISSN 0195-9131.



BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. **J Nutr**, v. 136, n. 1 Suppl, p. 207s-11s, Jan 2006. ISSN 0022-3166 (Print) 0022-3166.

BROWN, E. et al. Soy versus whey protein bars: Effects on exercise training impact on lean body mass and antioxidant status. **Nutrition Journal**, v. 3, n. 1, p. 22, 2004. ISSN 1475-2891. Disponível em: <<http://www.nutritionj.com/content/3/1/22> >.

BURKE, L. M. et al. Preexercise aminoacidemia and muscle protein synthesis after resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 10, p. 1968-77, Oct 2012. ISSN 0195-9131.

CAMPBELL, B. et al. International Society of Sports Nutrition position stand: protein and exercise. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 4, p. 8, 2007. ISSN 1550-2783.

CAMPOS-FERRAZ, P. L. et al. Distinct effects of leucine or a mixture of the branched-chain amino acids (leucine, isoleucine, and valine) supplementation on resistance to fatigue, and muscle and liver-glycogen degradation, in trained rats. **Nutrition**, v. 29, n. 11-12, p. 1388-94, Nov-Dec 2013. ISSN 0899-9007.

CERMAK, N. M. et al. Muscle metabolism during exercise with carbohydrate or protein-carbohydrate ingestion. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 12, p. 2158-64, Dec 2009. ISSN 0195-9131.

CHEN, W. C. et al. Whey protein improves exercise performance and biochemical profiles in trained mice. **Med Sci Sports Exerc**, v. 46, n. 8, p. 1517-24, Aug 2014. ISSN 0195-9131.

CÓRDOVA, A.; et al. Oxidative Stress Markers After a Race in Professional Cyclists. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, Jul 14 [Epub ahead of print]. 2014.

COX, GR.; et al. Daily training with high carbohydrate availability increases exogenous carbohydrate oxidation during endurance cycling. **J Appl Physiol**, n. 109, p. 126-134, 2010.

CUBRILO, D. et al. Oxidative estresse and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: relation to sport type. **Mol Cell Biochem**, v. 355, n. 1-2, p. 273-9, Sep 2011. ISSN 0300-8177.

DALLE-DONNE, I. et al. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. **J Cell Mol Med**, v. 10, n. 2, p. 389-406, Apr-Jun 2006. ISSN 1582-1838 (Print) 1582-1838.

DE ARAUJO, J. A., JR. et al. Effect of chronic supplementation with branched-chain amino acids on the performance and hepatic and muscle glycogen content in trained rats. **Life Sci**, v. 79, n. 14, p. 1343-8, Aug 29 2006. ISSN 0024-3205 (Print) 0024-3205.

DE CAMPOS-FERRAZ, P. L. et al. Exercise x BCAA Supplementation in Young Trained Rats: What are their Effects on Body Growth? **J Sports Sci Med**, v. 10, n. 3, p. 483-90, 2011. ISSN 1303-2968.

- DE CASTRO, R. J. S.; SATO, H. H. Antioxidant activities and functional properties of soy protein isolate hydrolysates obtained using microbial proteases. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 2, p. 317-328, 2014. ISSN 1365-2621. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.12285> >.
- DIENER, J. R. C. Calorimetria indireta. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, p. 245-253, 1997. ISSN 0104-4230. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-42301997000300013&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42301997000300013&nrm=iso) >.
- ELIA, D. et al. Effect of soy- and whey protein-isolate supplemented diet on the redox parameters of trained mice. **Eur J Nutr**, v. 45, n. 5, p. 259-66, Aug 2006. ISSN 1436-6207 (Print) 1436-6207.
- ERDMAN, K. A.; FUNG, T. S.; REIMER, R. A. Influence of performance level on dietary supplementation in elite Canadian athletes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 2, p. 349-56, Feb 2006. ISSN 0195-9131 (Print) 0195-9131.
- FALAVIGNA, G. et al. Effects of diets supplemented with branched-chain amino acids on the performance and fatigue mechanisms of rats submitted to prolonged physical exercise. **Nutrients**, v. 4, n. 11, p. 1767-80, Nov 2012. ISSN 2072-6643.
- FERGUSON-STEGALL, L. et al. The effect of a low carbohydrate beverage with added protein on cycling endurance performance in trained athletes. **J Strength Cond Res**, v. 24, n. 10, p. 2577-86, Oct 2010. ISSN 1064-8011.
- GARTHE, I. et al. Effect of two different weight-loss rates on body composition and strength and power-related performance in elite athletes. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 21, n. 2, p. 97-104, Apr 2011. ISSN 1526-484X (Print) 1526-484x.
- GLADDEN, L. B. 200th anniversary of lactate research in muscle. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 36, n. 3, p. 109-15, Jul 2008. ISSN 0091-6331.
- GLADDEN, L. B. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. **J Physiol**, v. 558, n. Pt 1, p. 5-30, Jul 1 2004. ISSN 0022-3751 (Print) 0022-3751.
- GONZALEZ-HARO, C. Maximal fat oxidation rate and cross-over point with respect to lactate thresholds do not have good agreement. **Int J Sports Med**, v. 32, n. 5, p. 379-85, May 2011. ISSN 0172-4622.
- HARBER, M.P.; et al. Muscle protein synthesis and gene expression during recovery from aerobic exercise in the fasted and fed states. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, n. 299, p. 1254-62, 2010.
- HEN, H.-M.; MURAMOTO, K.; YAMAUCHI, F. Structural Analysis of Antioxidative Peptides from Soybean .beta.-Conglycinin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 3, p. 574-578, 1995/03/01 1995. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf00051a004> >. Acesso em: 2014/07/22.

- HILL, K.M.; et al. Co-ingestion of carbohydrate and whey protein isolates enhance PGC-1 $\alpha$  mRNA expression: a randomised, single blind, cross over study. **J Int Soc Sports Nutr**, n. 12, v. 10, 2013.
- IVY, J. L. et al. Early postexercise muscle glycogen recovery is enhanced with a carbohydrate-protein supplement. **J Appl Physiol** (1985), v. 93, n. 4, p. 1337-44, Oct 2002. ISSN 8750-7587 (Print) 0161-7567.
- JEUKENDRUP, A. E.; TIPTON, K. D.; GIBALA, M. J. Protein plus carbohydrate does not enhance 60-km time-trial performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 19, n. 4, p. 335-7; author reply 337-9, Aug 2009. ISSN 1526-484X (Print) 1526-484x.
- KARVONEN, J.J.; KENTALA, E.; MUSTALA, O. The effects of training on heart rate: a “longitudinal” study. **Ann Med Exp Biol Fenn.**, v. 35: 307-15, 1957.
- KERASIOTI E.; et al. Effect of a special carbohydrate–protein cake on oxidative stress markers after exhaustive cycling in humans. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, p. 2805–2810, 2012.
- KERASIOTI, E. et al. Antioxidant effects of whey protein on muscle C2C12 cells. **Food Chem**, v. 155, p. 271-8, Jul 15 2014. ISSN 0308-8146 (Print) 0308-8146.
- KERKSICK, C.; et al. International Society of Sports Nutrition position stand: nutrient timing. **J Int Soc Sports Nutr**, n. 57 v. 16, 2008.
- LIU, J.; WANG, X.; ZHAO, Z. Effect of whey protein hydrolysates with different molecular weight on fatigue induced by swimming exercise in mice. **J Sci Food Agric**, v. 94, n. 1, p. 126-30, Jan 15 2014. ISSN 0022-5142.
- MATSUMOTO, K. et al. Branched-chain amino acid supplementation attenuates muscle soreness, muscle damage and inflammation during an intensive training program. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 49, n. 4, p. 424-31, Dec 2009. ISSN 0022-4707 (Print) 0022-4707.
- MAUGHAN R. Nutritional status, metabolic responses to exercise and implications for performance. **Biochem Soc**, n. 31, v. 6, p. 1267–1269, 2003
- MCCLEAVE, E. L. et al. A low carbohydrate-protein supplement improves endurance performance in female athletes. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 4, p. 879-88, Apr 2011. ISSN 1064-8011.
- MOORE, D.R.; et al. Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men. **Am J Clin Nutr**, n. 89, p. 161–8, 2009.
- MONTUSCHI, P.; et al. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. **The FASEB Journal**, v. 18, December, 2004.
- NIKAWA, T. et al. Effects of a soy protein diet on exercise-induced muscle protein catabolism in rats. **Nutrition**, v. 18, n. 6, p. 490-5, Jun 2002. ISSN 0899-9007 (Print)

- NILSSON, M. et al. Glycemia and insulinemia in healthy subjects after lactose-equivalent meals of milk and other food proteins: the role of plasma amino acids and incretins. **Am J Clin Nutr**, v. 80, n. 5, p. 1246-53, Nov 2004. ISSN 0002-9165 (Print) 0002-9165.
- NILSSON, M.; HOLST, J.; BJORCK, I. Metabolic effect of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose equivalent drinks. **Am J Clin Nutr**, n. 85, p. 996–1004, 2007.
- OMANO-ELY, B. C. et al. Effect of an isocaloric carbohydrate-protein-antioxidant drink on cycling performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 9, p. 1608-16, Sep 2006. ISSN 0195-9131 (Print) 0195-9131.
- PARDINI, R. et al. Validação do questionário internacional de nível de atividade física (IPAQ - versão 6): estudo piloto em adultos jovens brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**. v. 9, n. 3, p. 45-51, 2001.
- PEÑTA-RAMOS, E. A.; XIONG, Y. L. Antioxidant Activity of Soy Protein Hydrolysates in a Liposomal System. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 8, p. 2952-2956, 2002. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08844.x> >.
- PHILLIPS, S. M.; VAN LOON, L. J. Dietary protein for athletes: from requirements to optimum adaptation. **J Sports Sci**, v. 29 Suppl 1, p. S29-38, 2011. ISSN 0264-0414.
- RANKIN, J. W.; SHUTE, M.; HEFFRON, S. P.; SAKER, K.E. Energy restriction but not protein source affects antioxidant capacity in athletes. **Free Radical Biology and Medicine**, v.41, n. 6, p. 1001-1009, 2006.
- REIDY, P.T.; et al. Protein Blend Ingestion Following Resistance Exercise Promotes Human Muscle Protein Synthesis. **J Nutr**, 143: 410–416, 2013.
- RIBAS, V.; et al. Glutathione and mitochondria. **Frontiers in Pharmacology**, v. 5, Article 151, 2014.
- RIBEIRO, A.B.; CARDOSO, M.A. Construção de um questionário de frequência alimentar como subsídio para programas de prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 239-245, 2002.
- ROWLANDS, D. S. et al. Effect of dietary protein content during recovery from high-intensity cycling on subsequent performance and markers of estresse, inflammation, and muscle damage in well-trained men. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 33, n. 1, p. 39-51, Feb 2008. ISSN 1715-5312 (Print).
- SAUNDERS, M. J. et al. Carbohydrate and protein hydrolysate coingestions improvement of late-exercise time-trial performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 19, n. 2, p. 136-49, Apr 2009. ISSN 1526-484X (Print) 1526-484x.
- SAUNDERS, M. J.; KANE, M. D.; TODD, M. K. Effects of a carbohydrate-protein beverage on cycling endurance and muscle damage. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 7, p. 1233-8, Jul 2004. ISSN 0195-9131 (Print) 0195-9131.

SHERMAN, W. M. Metabolism of sugars and physical performance. **Am J Clin Nutr**, v. 62, n. 1 Suppl, p. 228s-241s, Jul 1995. ISSN 0002-9165 (Print) 0002-9165.

SILVA TON, W. T. et al. Effect of different protein types on second meal postprandial glycaemia in normal weight and normoglycemic subjects. **Nutr Hosp**, v. 29, n. 3, p. 553-8, Mar 2014. ISSN 0212-1611.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais de riscos para a saúde. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.15, n.3, p. 3-12, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais de riscos para a saúde. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.15, n.3, p. 3-12, 2009.

SOCIEDADE ESPANHOLA PARA EL ESTUDIO DE LA OBESIDAD (SEEDO). Consenso SEEDO'2000 para la evaluación Del sobrepeso y La obesidad y El establecimiento de critérios de intervención terapêutica. **Medicina Clínica**, v. 115, n.15, p.587-97, 2000.

STRUNKARD, A. J.; MESSICK, S. The three factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. **Journal of Psychosomatic Research**, Res. v. 29, n.1, p. 71-83, 1985.

TANG, J.E.; et al. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. **J Appl Physiol**, n. 107, p. 987–992, 2009.

TANIGUCHI, M.; YASUTAKE, A.; TAKEDOMI, K. Effects of dietary sulfur-containing amino acids on oxidative damage in rat liver caused by N-nitrosodimethylamine administration. **Br J Nutr**, v. 84, n. 2, p. 211-7, Aug 2000. ISSN 0007-1145 (Print) 0007-1145.

TIPTON, K. D.; et al. Ingestion of casein and whey proteins result in muscle anabolism after resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, n. 36, p. 2073–2081, 2004.

TONG, X. et al. [Whey protein improves insulin resistance via the increase of antioxidant capacity in model rats]. **Wei Sheng Yan Jiu**, v. 40, n. 5, p. 617-9, Sep 2011. ISSN 1000-8020 (Print) 1000-8020.

TONG, X. et al. Effects of whey protein and leucine supplementation on insulin resistance in non-obese insulin-resistant model rats. **Nutrition**, Feb 15 2014. ISSN 0899-9007.

TOONE, R. J.; BETTS, J. A. Isocaloric carbohydrate versus carbohydrate-protein ingestion and cycling time-trial performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 20, n. 1, p. 34-43, Feb 2010. ISSN 1526-484X (Print) 1526-484x.

VALENTINE, R. J. et al. Influence of carbohydrate-protein beverage on cycling endurance and indices of muscle disruption. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 18, n. 4, p. 363-78, Aug 2008. ISSN 1526-484X (Print) 1526-484x.

VALERIO, A.; D'ANTONA, G.; NISOLI, E. Branched-chain amino acids, mitochondrial biogenesis, and healthspan: an evolutionary perspective. **Aging (Albany NY)**, v. 3, n. 5, p. 464-78, May 2011. ISSN 1945-4589.

VESKOUKIS, A. S. et al. Effects of xanthine oxidase inhibition on oxidative estresse and swimming performance in rats. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 33, n. 6, p. 1140-54, Dec 2008. ISSN 1715-5312 (Print).

WAGENMAKERS, A. J. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 26, p. 287-314, 1998. ISSN 0091-6331 (Print) 0091-6331

WALZEM, R. L. C.; et al. Whey compo- nents: Millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 42, p. 353–375, 2002.

WILBORN, C. D. et al. The Effects of Pre- and Post-Exercise Whey vs. Casein Protein Consumption on Body Composition and Performance Measures in Collegiate Female Athletes. **J Sports Sci Med**, v. 12, n. 1, p. 74-9, 2013. ISSN 1303-2968.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical Status: the use of anthropometry**. Technical report series, 854, Geneva, 1995.

XU, R. et al. Antioxidative effects of whey protein on peroxide-induced cytotoxicity. **J Dairy Sci**, v. 94, n. 8, p. 3739-46, Aug 2011. ISSN 0022-0302.

YANG, Y.; et al. Myofibrillar protein synthesis following ingestion of soy protein isolate at rest and after resistance exercise in elderly men. **Nutr Metab**, n. 9, p. 57, 2012a.

YANG, Y.; et al. Resistance exercise enhances myofibrillar protein synthesis with graded intakes of whey protein in older men. **Br J Nutr**, n. 4, 2012b.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de suplementos dietéticos, principalmente de suplementos proteicos, para aumentar o desempenho é bastante comum entre atletas profissionais e recreativos. Entretanto, ainda há escassez de estudos que comprovem o efeito da qualidade proteica nos parâmetros relacionados ao desempenho esportivo.

A ingestão da bebida com o isolado proteico de soro de leite aumentou a atividade da superóxido dismutase em relação às bebidas contendo soja e a controle. A proteína do soro de leite e a da soja preveniram o aumento da peroxidação lipídica após o exercício. Esses resultados indicaram que tanto o isolado proteico de soro de leite quanto o da soja podem melhorar o perfil antioxidante em ciclistas após o exercício.

A ingestão do soro de leite resultou ainda em menor coeficiente respiratório em relação ao observado para a proteína soja. Verificou-se o aumento da oxidação lipídica e do desempenho físico nos ciclistas treinados em resposta ao consumo do soro de leite. O desempenho no oitavo dia de consumo da proteína do soro de leite foi maior que o verificado após o consumo das bebidas contendo proteína da soja e a controle.

Outros estudos devem ser conduzidos para confirmar os resultados obtidos neste estudo. Além disso, esses estudos devem avaliar os efeitos da qualidade proteica em outras modalidades esportivas por um período de tempo maior que o avaliado neste estudo, tanto em homens quanto em mulheres.

## **ANEXOS**



## ANEXO I



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS-CEPH

Campus Universitário - Divisão de Saúde - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-3783

Of. Ref. Nº 131/2012/CEPH/05-12-04

Viçosa, 11 de outubro de 2012

Prezada Professora:

Cientificamos Vossa Senhoria de que o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, em sua 5ª Reunião de 2012, realizada no dia 26 de setembro de 2012 e continuação no dia 03 de outubro de 2012, aprovou, sob o aspecto ético, o projeto intitulado "*Efeitos da ingestão de diferentes isolados protéicos no metabolismo energético, no nível de marcadores de estresse oxidativo e no desempenho físico em indivíduos ativos*".

Atenciosamente,

Professora Patrícia Aurélio Del Nero

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos-CEPH  
Presidente

À Profª. Rita de Cássia Gonçalves Alfenas  
Departamento de Nutrição e Saúde - DNS

## ANEXO II



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE**

### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Concordo voluntariamente em me submeter a pesquisa EFEITO DA INGESTÃO DE DIFERENTES ISOLADOS PROTEICOS NO NÍVEL DE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E NO DESEMPENHO FÍSICO EM HOMENS CICLISTAS”. Estou ciente de que:

1. Os seguintes procedimentos serão realizados durante o estudo:

1. Aplicação de questionários para avaliação do nível de atividade física, da ingestão alimentar, do nível de restrição e desibinição alimentar e para obtenção de dados pessoais;
2. Avaliação bioquímica (glicemia de jejum, colesterol total e frações e triglicerídeos), antropométrica e da composição corporal e antes e após cada etapa do experimento;
3. Aplicação de um protocolo de exercício em cicloergômetro para avaliação do desempenho físico;
4. Avaliação do metabolismo energético em repouso, pós-prandial, durante a após a atividade física.

2. Estou esclarecido sobre os riscos inerentes ao protocolo de exercícios a serem realizados durante o estudo. Sei que esses riscos são mínimos, tendo em vista que tais exercícios reproduzem em menor escala a intensidade e duração de exercícios que realizo habitualmente.

3. O estudo terá 3 semanas não consecutivas de duração, sendo que em cada semana de testes o participante fará a ingestão de um shake preparado e servido no Laboratório de Estudos em Ingestão Alimentar do Departamento de Nutrição/UFV e fará a ingestão de uma dieta isocalórica nesse período .

4. Como participante do estudo não serei submetido a nenhum tipo de intervenção que possa causar danos a minha saúde, visto que as condutas a serem adotadas objetivam a promoção da mesma e são respaldadas na literatura científica.

5. Estou ciente que não terei nenhum tipo de vantagem econômica ou material por participar do estudo, além de poder abandonar a pesquisa em qualquer etapa do desenvolvimento, sem qualquer prejuízo.

6. Estou em conformidade que meus resultados obtidos estarão disponíveis para a agência financeira e para a equipe envolvida na pesquisa e poderão ser publicados com a finalidade de divulgação das informações científicas obtidas, sempre resguardando minha individualidade e identificação

Estou suficientemente informado pelos membros do presente estudo sobre as condições em que irão ocorrer o desenvolvimento das etapas do experimento, sob responsabilidade da Prof<sup>a</sup>. Rita de Cássia G. Alfenas e sua equipe de trabalho.

Assinaturas:

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Rita de Cássia G. Alfenas  
Responsável pelo projeto

\_\_\_\_\_  
MSc. Winder Tadeu Silva Ton  
Mestrando em Ciência da Nutrição

\_\_\_\_\_  
Participante



Suplemento	Quantidade	Frequência

- Está usando nesse momento algum outro suplemento dietético ou alimento para praticantes de atividade física?

( ) Não ( ) Sim Quais?

Suplemento	Quantidade	Frequência

- Antropometria

Massa corporal: \_\_\_\_\_ kg          Altura: \_\_\_\_\_ m

Índice de Massa Corporal (IMC): \_\_\_\_\_ kg/m<sup>2</sup>

Classificação: \_\_\_\_\_

Possui alguma doença ou necessidade especial que impossibilita a pratica de atividade física em bicicleta?

- ( ) Não ( ) Sim          O que? \_\_\_\_\_

### Resultado dos questionários

Ingestão alimentar habitual (Questionário de Frequência Alimentar)

- Energia: \_\_\_\_\_ kcal
- Proteína: \_\_\_\_\_ g/kg de peso          \_\_\_\_\_ g          \_\_\_\_\_ %
- Carboidratos: \_\_\_\_\_ g          \_\_\_\_\_ %
- Lipídeos: \_\_\_\_\_ g          \_\_\_\_\_ %

Nível de Atividade Física (IPAQ)

- Resultado: \_\_\_\_\_

Avaliação do recrutamento: ( ) Incluído ( ) Excluído

## ANEXO IV

### QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Quantas horas você trabalha por dia: \_\_\_\_\_

Quantos anos completos você estudou: \_\_\_\_\_

Para responder as questões lembre que:

➤ Atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal

➤ Atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal

#### SEÇÃO 1- ATIVIDADE FÍSICA NO TRABALHO

Esta seção inclui as atividades que você faz no seu serviço, que incluem trabalho remunerado ou participante, as atividades na escola ou faculdade e outro tipo de trabalho não remunerado fora da sua casa. **NÃO** incluir trabalho não remunerado que você faz na sua casa como tarefas domésticas, cuidar do jardim e da casa ou tomar conta da sua família. Estas serão incluídas na seção 3.

1a. Atualmente você trabalha ou faz trabalho participante fora de sua casa?

( ) Sim ( ) Não – Caso você responda não **Vá para seção 2: Transporte**

As próximas questões são em relação a toda a atividade física que você fez na **última semana** como parte do seu trabalho remunerado ou não remunerado. **NÃO** inclua o transporte para o trabalho. Pense unicamente nas atividades que você faz por **pelo menos 10 minutos contínuos**:

CAM

1b. Em quantos dias de uma semana normal você **anda**, durante **pelo menos 10 minutos contínuos**, como parte do seu trabalho? Por favor, **NÃO** inclua o andar como forma de transporte para ir ou voltar do trabalho.

\_\_\_\_\_ dias por SEMANA

( ) nenhum – **Vá para a seção 2 - Transporte.**

1c. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** caminhando **como parte do seu trabalho** ?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

MOD

1d. Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades **moderadas**, por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como carregar pesos leves **como parte do seu trabalho**?

\_\_\_\_\_ dias por SEMANA

( ) nenhum - **Vá para a questão 1f**

1e. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades moderadas **como parte do seu trabalho**?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

1f. Em quantos dias de uma semana normal você gasta fazendo atividades **vigorosas**, por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como trabalho de construção pesada, carregar grandes pesos, trabalhar com enxada, escavar ou subir escadas **como parte do seu trabalho**:

\_\_\_\_\_ dias por SEMANA

**VIG** ( ) nenhum - **Vá para a questão 2a.**

1g. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades físicas vigorosas **como parte do seu trabalho**?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

#### SEÇÃO 2 - ATIVIDADE FÍSICA COMO MEIO DE TRANSPORTE

Estas questões se referem à forma típica como você se desloca de um lugar para outro, incluindo seu trabalho, escola, cinema, lojas e outros.

2a. O quanto você andou na última semana de carro, ônibus, metrô ou trem?

\_\_\_\_\_ dias por SEMANA

( ) nenhum - **Vá para questão 2c**

2b. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** andando de carro, ônibus, metrô ou trem?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

Agora pense **somente** em relação a caminhar ou pedalar para ir de um lugar a outro na última semana.

2c. Em quantos dias da última semana você andou de bicicleta por **pelo menos 10 minutos contínuos** para ir de um lugar para outro? (**NÃO** inclua o pedalar por lazer ou exercício)

\_\_\_\_\_ dias por SEMANA

( ) Nenhum - **Vá para a questão 2e.**

MOD

**2d.** Nos dias que você pedala quanto tempo no total você pedala **POR DIA** para ir de um lugar para outro?

VIG

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

CAM

**2e.** Em quantos dias da ultima semana você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** para ir de um lugar para outro? (**NÃO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício)

\_\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) Nenhum - **Vá para a Seção 3.**

**2f.** Quando você caminha para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta? (**NÃO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício)

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

### **SEÇÃO 3 – ATIVIDADE FÍSICA EM CASA: TRABALHO, TAREFAS DOMÉSTICAS E CUIDAR DA FAMÍLIA.**

Esta parte inclui as atividades físicas que você fez na última semana na sua casa e ao redor da sua casa, por exemplo, trabalho em casa, cuidar do jardim, cuidar do quintal, trabalho de manutenção da casa ou para cuidar da sua família. Novamente pense **somente** naquelas atividades físicas que você faz **por pelo menos 10 minutos contínuos**.

CAM

MOD

**3a.** Em quantos dias da ultima semana você fez atividades **moderadas** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer, rastelar **no jardim ou quintal**.

\_\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) Nenhum - **Vá para questão 3b.**

**3b.** Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo no total você gasta **POR DIA** fazendo essas atividades moderadas **no jardim ou no quintal**?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

MOD

MOD

**3c.** Em quantos dias da ultima semana você fez atividades **moderadas** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer ou limpar o chão **dentro da sua casa**.

\_\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) Nenhum - **Vá para questão 3d.**

**3d.** Nos dias que você faz este tipo de atividades moderadas **dentro da sua casa** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

VIG

**3e.** Em quantos dias da ultima semana você fez atividades físicas **vigorosas no jardim ou quintal** por pelo menos 10 minutos como carpir, lavar o quintal, esfregar o chão:

\_\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) Nenhum - **Vá para a seção 4.**

**3f.** Nos dias que você faz este tipo de atividades vigorosas **no quintal ou jardim** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

### **SEÇÃO 4- ATIVIDADES FÍSICAS DE RECREAÇÃO, ESPORTE, EXERCÍCIO E DE LAZER.**

Esta seção se refere às atividades físicas que você fez na última semana unicamente por recreação, esporte, exercício ou lazer. Novamente pense somente nas atividades físicas que faz **por pelo menos 10 minutos contínuos**. Por favor, **NÃO** inclua atividades que você já tenha citado.

**4a.** Sem contar qualquer caminhada que você tenha citado anteriormente, em quantos dias da

ultima semana você caminhou **por pelo menos 10 minutos contínuos no seu tempo livre**?

CAM

\_\_\_\_\_ dias por **SEMANA** ( ) Nenhum - **Vá para questão 4b**

**4b.** Nos dias em que você caminha **no seu tempo livre**, quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

**4c.** Em quantos dias da ultima semana você fez atividades **moderadas no seu tempo livre** por pelo menos 10 minutos, como pedalar ou nadar a velocidade regular, jogar bola, vôlei, basquete, tênis:

\_\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) Nenhum - **Vá para questão 4d.**

**4d.** Nos dias em que você faz estas atividades moderadas **no seu tempo livre** quanto tempo no

total você gasta **POR DIA**?

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

**4e.** Em quantos dias da ultima semana você fez atividades **vigorosas no seu tempo livre**

por pelo menos 10 minutos, como correr, fazer aeróbicos, nadar rápido, pedalar rápido ou fazer

Jogging:

\_\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) Nenhum - **Vá para seção 5.**

**4f.** Nos dias em que você faz estas atividades vigorosas **no seu tempo livre** quanto tempo no total

você gasta **POR DIA?**

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

### SEÇÃO 5 - TEMPO GASTO SENTADO

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentado durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

**5a.** Quanto tempo no total você gasta sentado durante um **dia de semana?**

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

**5b.** Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um **dia de final de semana?**

\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

**O espaço abaixo será preenchido pelo pesquisador (Por favor, não preencha)**

**Resultado:**

### **Classificação:**

- ( ) Sedentário ( ) Irregularmente ativo A
- ( ) Irregularmente ativo B
- ( ) Ativo ( ) Muito ativo

Caminhada		Ativ. moderada		Ativ. vigorosa	
Frequên	Duração	Frequên	Duração	Frequên	Duração





## ANEXO VI

### ***Three Factor Eating Questionnaire - TFEQ* - Stunkard & Messick, 1985** **Questionário de 3 fatores para avaliação do comportamento alimentar**

#### **PARTE 1**

- |   |   |   |   |
|---|---|---|---|
| 1- Quando eu sinto o cheiro de um bife fritando, ou vejo um pedaço suculento de carne, eu encontro muita dificuldade para não comê-lo, se eu tiver acabado de fazer uma refeição. | V | F | 2 |
| 2- Eu geralmente como muito em ocasiões sociais, gosto de festas e picnics.   | V | F | 2 |
| 3- Eu geralmente estou faminto por isso como mais de três vezes por dia.  | V | F | 3 |
| 4- Quando eu como minha cota de calorias, eu normalmente me sinto bem em não comer mais nada.   | V | F | 1 |
| 5- Fazer dieta é muito difícil para mim porque sinto muita fome.  | V | F | 3 |
| 6- Eu intencionalmente como pequenas refeições para ajudar no controle do meu peso  | V | F | 1 |
| 7- Às vezes, alguns alimentos têm sabor tão bom que consigo comer mesmo quando não estou com fome.  | V | F | 2 |
| 8- Visto que estou sempre com fome, às vezes desejo que enquanto estou comendo, um especialista me diga se comi o suficiente ou se poderia comer mais alguma coisa.               | V | F | 3 |
| 9- Quando estou ansioso (a), costumo comer mais do que normalmente como.  | V | F | 2 |
| 10- A vida é muito curta para perdê-la fazendo dieta.   | V | F | 1 |
| 11- Quando meu peso aumenta ou diminui, faço dieta  | V | F | 2 |
| 12- Sempre que sinto muita fome tenho que comer alguma coisa.   | V | F | 3 |
| 13- Quando estou com alguém que come muito, eu também como muito.   | V | F | 2 |
| 14- Eu tenho uma boa noção de quantas calorias têm os alimentos mais comuns.  | V | F | 1 |
| 15- Às vezes, quando eu começo a comer, não consigo parar.  | V | F | 2 |
| 16- Não é difícil para eu deixar resto no prato.  | V | F | 2 |
| 17- Em determinados horários do dia, eu fico com fome porque tenho o hábito de comer nesses horários.   | V | F | 3 |
| 18- Quando estou fazendo dieta, se eu como algo que não é permitido, eu intencionalmente como menos por um período de tempo para compensar.                                       | V | F | 1 |
| 19- Quando estou com alguém que está comendo, as vezes sinto fome suficiente para comer também.   | V | F | 3 |
| 20- Quando me sinto deprimido, eu sempre como muito   | V | F | 2 |
| 21- Eu divirto comendo muito e fico deprimido contando calorias ou vigiando meu peso.   | V | F | 1 |
| 22- Quando eu vejo uma guloseima, eu freqüentemente fico com fome e tenho que comer imediatamente.  | V | F | 3 |
| 23- Eu freqüentemente paro de comer antes de estar completamente cheio, como forma consciente de limitar a quantidade de comida ingerida.   | V | F | 1 |
| 24- Eu sinto tanta fome que meu estômago, freqüentemente, parece um buraco sem fundo.   | V | F | 3 |
| 25- Meu peso mudou pouco durante os últimos 10 anos.  | V | F | 2 |
| 26- Eu estou sempre faminta, por isso é difícil para eu parar de comer antes  | V | F | 3 |

de acabar a comida no meu prato.

27- Quando eu me sinto sozinha, eu me consolo comendo. V F 2

28- Eu conscientemente vomito uma refeição com objetivo de não ganhar peso. V F 1

29- Eu, algumas vezes, tenho muita fome pela tarde ou à noite. V F 3

30- Eu como qualquer coisa que quero, quando eu quero. V F 1

31- Sem pensar em comida, eu agüento ficar muito tempo sem comer. V F 2

32- Eu conto calorias como meio consciente de controlar meu peso. V F 1

33- Eu não como alguns alimentos porque eles podem me engordar. V F 1

34- Eu estou sempre com fome o suficiente para comer por muito tempo. V F 3

35- Eu presto muita atenção às mudanças no meu corpo. V F 1

36- Enquanto estou fazendo dieta, se eu como um alimento que não é permitido, eu, muitas vezes, como outros alimentos com elevado teor calórico. V F 2

## PARTE 2

Por favor responda as seguintes questões marcando um "x" na resposta apropriada para você.

37- Com que freqüência você faz dieta com intenção de controlar seu peso?

1	2	3	4
raramente	algumas vezes	freqüentemente	sempre

38- Poderia a flutuação de peso de 2.kg afetar a maneira como você vive sua vida?

1	2	3	4
não totalmente	pouco	moderadamente	muito

39- Qual a freqüência que você sente fome?

1	2	3	4
somente na hora das refeições	algumas vezes entre as refeições	freqüentemente entre as refeições	quase sempre

40- Sua sensação de culpa por comer muito ajuda você a controlar sua ingestão de alimentos?

1	2	3	4
nunca	raramente	freqüentemente	sempre

41- Quão difícil seria para você parar de comer a meio caminho de terminar o jantar e ficar sem comer nas próximas quatro horas?

1	2	3	4
fácil	pouco difícil	moderadamente difícil	muito difícil

42- Você tem consciência sobre o que você está comendo?

1	2	3	4
não totalmente	pouco	moderadamente	extremamente

43- Qual a freqüência que você tem resistido a alimentos tentadores?

1	2	3	4
quase nunca	raramente	freqüentemente	quase sempre

44- Qual a probabilidade de você comprar alimentos de baixa caloria?

1	2	3	4
improvável	pouco provável	moderadamente provável	muito provável

**45- Você come moderadamente diante de outros e sozinho come grande quantidade de alimentos?**

1	2	3	4
nunca	raramente	freqüentemente	sempre

**46- Qual a probabilidade de você, conscientemente, comer lentamente com objetivo de reduzir o quanto você come?**

1	2	3	4
improvável	pouco provável	moderadamente provável	muito provável

**47- Com qual freqüência você dispensa uma sobremesa porque você já está satisfeita?**

1	2	3	4
quase nunca	raramente	no mínimo uma vez por semana	quase todo dia

**48- Qual a probabilidade de você comer conscientemente menos do que você quer?**

1	2	3	4
improvável	pouco provável	moderadamente provável	muito provável

**49- Você costuma comer mesmo sem estar com fome?**

1	2	3	4
nunca	raramente	Algumas vezes	ao menos uma vez por semana

**50- Na escala de 0 a 5, onde 0 quer dizer sem restrição alimentar (comer tudo que você quer, sempre que você quer) e 5 significa restrição total (limita constantemente a ingestão de alimentos e nunca cede) qual o número você poderia dar para você mesmo?**

0
Come tudo que você quer, quando que você quer
1
freqüentemente come tudo que você quer, quando você quer
2
Muitas vezes come tudo que você quer, Quando você quer
3
muitas vezes limita ingestão de alimentos, mas freqüentemente cede
4
freqüentemente limita ingestão de alimentos, mas raramente cede
5
constantemente limita ingestão de alimentos, nunca cede

+1

**51- Até que ponto esta declaração descreve seu comportamento alimentar? Eu começo fazer dieta pela manhã, mas devido algum número de coisas que acontecem durante o dia, pela tarde eu me rendo e como o que eu quero e prometo a mim mesma (o) começar, novamente, a dieta amanhã.**

1	2	3	4
não parece comigo	parece um pouco comigo	me descreve muito bem	me descreve perfeitamente

+2

## ANEXO VII

### Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar (QQFA)

Leite e derivados	Quantas vezes você come	Unidade	Pequena	Média	Grande
Leite integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Leite desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Iogurte convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Iogurte light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Queijo branco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Queijo amarelo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Requeijão convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Requeijão light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Pães e substitutos</b>					
Pão francês	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pão de forma convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pão de forma Light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pão integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pão de queijo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Biscoito salgado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Biscoito polvilho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Biscoito de maisena	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Biscoito recheado diet	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Biscoito recheado convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Biscoito Waffer diet	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Biscoito Waffer convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Bolodiet	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Bolo convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Gorduras</b>					
Margarina convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Margarina Light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Manteiga	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Maionese convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Maionese light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Azeite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Cereais</b>					
Arroz	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Arroz integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Arroz temperado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Batata Frita	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Mandioca Frita	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Batata cozida	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Mandioca cozida	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Angu	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Milho Verde	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Macarrão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Lasanha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Macarrão instantâneo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			

<b>Salgados</b>	<b>Quantas vezes você come</b>	<b>Unidade</b>	<b>Pequena</b>	<b>Média</b>	<b>Grande</b>
Coxinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Quibe	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Esfiha/ enroladinho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Empada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pastel	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pizza	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Farinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Farofa	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Frutas</b>					
Laranja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Banana	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Maçã	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pêra	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Mamão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Melancia/ melão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Abacaxi	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Uva	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Outras frutas_____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Suco de laranja natural	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Suco de outras frutas_____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Leguminosas</b>					
Feijão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Feijão tropeiro	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Soja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Ervilha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Verduras/ legumes</b>					
Alface	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Agrião	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Repolho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Espinafre	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Couve	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Couve flor, brócolis	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Cenoura crua	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Cenoura cozida	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Abóbora cozida	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Tomate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Beterraba	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Chuchu	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Abobrinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Quiabo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pepino	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Outros	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Sopas_____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			

<b>Carnes</b>	<b>Quantas vezes você come</b>	<b>Unidade</b>	<b>Pequena</b>	<b>Média</b>	<b>Grande</b>
---------------	--------------------------------	----------------	----------------	--------------	---------------

Carne bovina magra _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Carne bovina gorda _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Carne Moída	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Carne suína magra _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Carne suína gorda _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Bacon, torresmo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Frango sem pele _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Frango com pele _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Peixes _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Lingüiça	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Salsicha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Ovo cozido	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Ovo frito/ omelete	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Presunto, mortadela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Hambúrguer	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Steak	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Bebidas</b>					
Refrigerante diet	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Suco artificial diet	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Refrigerante convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Suco artificial convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Doces, miscelâneas</b>					
Chocolates _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Arroz doce _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Doce de leite _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Doces de fruta _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Sorvete _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Pipoca _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Achocolatado _____	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
Chips ®	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
<b>Outros Alimentos</b>					
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			
	<b>N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</b>	<b>D S M</b>			

D (diária), S (semanal), M (mensal), N (nunca).

(Ribeiro e Cardoso, 2002)