UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

CLAUDIA RIBEIRO DA LUZ

Efeitos da suplementação de leucina e aminoácidos de cadeia ramificada
associados ao exercício de força sobre a via de sinalização Akt/mTOR: um estudo
randomizado, duplo-cego e controlado por placebo

São Paulo
2013

CLAUDIA RIBEIRO DA LUZ

Efeitos da suplementação de leucina e aminoácidos de cadeia ramificada associados ao exercício de força sobre a via de sinalização Akt/mTOR: um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo

Dissertação apresentada à
Escola de Educação Física e Esporte
da Universidade de São Paulo, como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Educação Física

Área de concentração:
Biodinâmica do Movimento Humano

Orientador: Prof. Dr. Antonio
Herbert Lancha Junior

São Paulo

2013

Nome: DA LUZ, Claudia Ribeiro

Título: Efeitos da suplementação de leucina e aminoácidos de cadeia ramificada associados ao exercício de força sobre a via de sinalização Akt/mTOR: um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo

Dissertação apresentada à
Escola de Educação Física e Esporte
da Universidade de São Paulo, como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Educação Física

Aprovado em:

Prof.Dr. _____ Instituição _____
Julgamento _____ Assinatura _____

Prof.Dr. _____ Instituição _____
Julgamento _____ Assinatura _____

Prof.Dr. _____ Instituição _____
Julgamento _____ Assinatura _____

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Lucia e José Augusto, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, que iluminaram caminhos obscuros com afeto e dedicação, que se doaram por inteiro sacrificando seus próprios sonhos em função dos meus e por serem meu maior exemplo de integridade, humildade e bondade.

Ao meu irmão e cunhada, Carlos e Ana Paula, pela amizade, pelos conselhos e pela ajuda nos momentos mais difíceis.

Ao Bruno, meu companheiro, por todo o carinho, compreensão e paciência, por estar sempre ao meu lado, por ser meu porto seguro me amparando nas horas tristes e de angústia, por todo companheirismo e amor incondicional.

Aos membros do laboratório por todo apoio, ajuda e conselhos ao longo desses anos.

Ao Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior, pelo apoio ao longo da minha jornada acadêmica e pela oportunidade e confiança depositada neste trabalho.

À Fapesp, pelo apoio financeiro.

A Deus, que me deu sabedoria, força e paciência durante essa jornada, por ter iluminado e guiado meu caminho possibilitando a realização desse sonho.

RESUMO

DA LUZ, C.R. **Efeitos da suplementação de leucina e aminoácidos de cadeia ramificada associados ao exercício de força sobre a via de sinalização Akt/mTOR: um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo.** 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Estudos sugerem que o exercício de força e a suplementação de aminoácidos de cadeia ramificada apresentam potencial anabólico e anti-proteolítico, exercendo de forma sinérgica efeitos positivos sobre o remodelamento muscular. Diante disso, esse estudo teve como objetivo comparar os efeitos da suplementação de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA) e leucina isolada sobre as vias de síntese proteica muscular após uma sessão de exercício de força. Foi conduzido um estudo transversal, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Dezoito sujeitos do gênero masculino, sedentários e com idade entre 18-30 anos foram divididos em três grupos experimentais: BCAA (BCAA: 3,3 g leucina + 2,4 g de isoleucina + 2,4 g de valina), leucina (LEU: 3,2 g de leucina + 4,8 g de alanina) e placebo (PLA: 8 g de alanina). Os grupos foram submetidos a uma sessão exercício de força (extensão de joelho) composta por 8 séries de 8-10 repetições (85% de 1RM) com 2 minutos de intervalo entre as séries e receberam intervenção nutricional imediatamente após o término da sessão. Imediatamente antes, imediatamente após, 30, 60, 90 e 120 minutos após o término da sessão os voluntários realizaram coletas de sangue. Os voluntários foram submetidos a biópsias musculares para análises de expressão proteica proteica (p-p70S6K^{Thr389}, p-4E-BP1^{Thr37/46}, p-pelF4E^{Ser209}) no período basal (pré), 1 e 2 horas após o término da sessão de exercício. As amostras de sangue foram utilizadas para medir os níveis plasmáticos de insulina, glicose, perfil lipídico e citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6 e IL-10). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para o perfil lipídico e os níveis plasmáticos de glicemia. A concentração plasmática de insulina aumentou significativamente nos grupos BCAA e LEU 60 minutos após a ingestão em comparação ao PLA. Para os valores de citocinas musculares, foi encontrada diferença significativa entre BCAA e

LEU comparado ao PLA para a concentração de IL-10 entre o momento 60 e 120 minutos após. Nesse mesmo período de tempo, também foi encontrada diferença significativa entre LEU e BCAA para a concentração de IL-1 β . Para os valores de citocinas plasmáticas, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em todos momentos analisados. A suplementação de BCAA e LEU aumentou significativamente a expressão p-4E-BP1^{Thr37/46} 120 minutos após comparado ao PLA no mesmo tempo. A expressão de p-p70S6k^{Thr389} foi significativamente aumentada nos grupos BCAA e LEU 60 e 120 minutos após quando comparado com o PLA no mesmo tempo. A expressão de p-eIF4E^{Ser209} encontrou-se significativamente aumentada após 60 minutos apenas no grupo LEU quando comparado ao PLA. Porém, 120 minutos após encontrou-se significativamente elevada em ambos grupos comparado ao PLA. Por meio dos resultados, podemos concluir que a suplementação de BCAA e leucina associadas ao exercício de força possuem efeitos semelhantes sobre o balanço inflamatório e sobre as vias de sinalização de síntese proteica muscular aumentando a fosforilação de efetores da cascata de sinalização da via Akt/mTOR.

Palavras chave: BCAA, leucina, exercício de força, remodelamento muscular, síntese proteica muscular, vias de sinalização.

ABSTRACT

DA LUZ, C.R. **Effects of leucine and branched chain amino acids supplementation associated with resistance exercise on the Akt / mTOR signaling pathway: a randomized, double-blind, placebo-controlled.** 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Studies suggest that resistance exercise and branched chain amino acids supplementation have potential anabolic and anti-proteolytic, synergistically exerting positive effects on muscle remodeling. Therefore, this study aimed to compare the effects of branched chain amino acids (BCAA) and leucine isolated supplementation on muscle remodeling pathways after a resistance exercise. A cross-sectional, a randomized, double-blind, placebo-controlled trial was conducted. Eighteen male sedentary subjects were aged 18-30 years were divided into three experimental groups: BCAA (BCAA: leucine + 3.3 g 2.4 g 2.4 g isoleucine + valine), leucine (LEU : 3.2 g of leucine + alanine 4.8 g) and placebo (PLA: 8 g of alanine). Both groups underwent a session of resistance exercise (knee extension) that consists of 8 sets of 8-10 repetitions (85% of 1RM) with 2 minutes rest between sets and received nutritional intervention immediately after the session. Immediately before, immediately after, 30, 60, 90 and 120 minutes after the end of the session the blood samples were assessed. Muscle biopsies were collected for analysis of protein expression (p-p70S6K^{Thr389}, p-4E-BP1^{Thr37/46}, p-peIF4E^{Ser209}, MAFbx and MURF-1) at baseline (pre), 1 and 2 hours after end of the exercise session. The blood samples were used to measure serum levels of insulin, glucose, lipid and cytokine (TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6 and IL-10). No significant differences between groups were observed for the lipid profile and plasma glucose. The plasma insulin increased significantly in the groups BCAA and leucine 60 minutes after ingestion compared to PLA. For values of muscular cytokines, significant difference was found between BCAA and LEU compared to PLA for the concentration of IL-10 between the time 60 and 120 minutes after. In that same time period, also found significant differences between LEU and BCAA for the concentration of IL-1 β . For values of plasma cytokines, no

significant differences between groups were observed at all time points analyzed. BCAA and LEU supplementation significantly increased the expression of p-4E-BP1^{Thr37/46} 120 minutes after the resistance exercise compared to PLA at the same time point. The expression of p-p70S6K^{Thr389} was significantly increased in BCAA and LEU groups 60 and 120 minutes after resistance exercise compared to PLA at the same time point. The expression of p-pelF4E^{Ser209}p70S6K^{Thr389} was significantly increased after 60 minutes only on LEU group compared to PLA at the same time point. However, 120 minutes after the expression was significantly elevated in both groups compared to PLA. Through the results, we can conclude that the BCAA and leucine supplementation associated with strength exercise have similar effects on the balance of inflammatory and signaling pathways of muscle protein synthesis by increasing the phosphorylation of effectors of the signaling cascade of Akt / mTOR .

Keywords: BCAA, leucine, resistance exercise, muscle remodeling, muscle protein synthesis, signaling pathways.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos sujeitos da amostra	41
Tabela 2 - Força Dinâmica Máxima dos sujeitos da amostra	41
Tabela 3 - Ingestão alimentar dos sujeitos da amostra.....	43
Tabela 4 - Efeitos da suplementação e do exercício de força agudo sobre os valores de glicemia e insulina plasmática.....	44
Tabela 5 - Perfil lipídico dos sujeitos da amostra no período pré	46
Tabela 6 - Efeitos da suplementação e do exercício de força agudo sobre a expressão de proteínas musculares.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento experimental do estudo	32
Figura 2 - Biópsia muscular com agulha de Bergstrom	38
Figura 3 - Fluxograma de sujeitos do estudo.....	40
Figura 4 - Força Dinâmica Máxima dos sujeitos da amostra.....	42
Figura 5 - Efeitos da suplementação e do exercício de força agudo sobre os valores de glicemia e insulina plasmática.....	45
Figura 6 - Efeitos da suplementação e do exercício de força agudo sobre o delta de 60 minutos de citocinas musculares.....	48
Figura 7 - Efeitos da suplementação e do exercício de força agudo sobre o delta de 120 minutos de citocinas musculares.....	49
Figura 8 - Efeitos da suplementação e do exercício de força agudo sobre o delta de 60 minutos de citocinas plasmáticas.....	51
Figura 9 - Efeitos da suplementação e do exercício de força agudo sobre o delta de 120 minutos de citocinas plasmáticas.....	52
Figura 10 - Efeitos da suplementação e do exercício de força agudo sobre a expressão de proteínas musculares.....	56

SUMÁRIO

Página

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Efeitos do exercício de força nas vias celulares de remodelamento muscular	16
2.2	Efeitos da suplementação de BCAA nas vias celulares de remodelamento muscular	21
2.3	Efeitos do exercício de força e da suplementação de BCAA nas vias celulares de remodelamento muscular	26
3	JUSTIFICATIVA	29
4	OBJETIVOS	30
4.1	Objetivo geral	30
4.2	Objetivos específicos	30
5	CASUÍSTICA E MÉTODOS	31
5.1	Protocolo experimental	31
5.2	Aprovação do comitê de ética em pesquisa	32
5.3	Seleção e recrutamento de pacientes	32
5.4	Protocolo de suplementação	33
5.5	Protocolo do exercício de força	33
5.6	Força Dinâmica Máxima	34
5.7	Antropometria e Composição Corporal	34
5.8	Avaliação Nutricional	34
5.9	Coleta sanguínea	35
5.10	Insulina e Glicemia	35
5.11	Perfil Lipídico	35
5.12	Concentração de citocinas	36
5.13	Biópsia muscular por agulha de sucção	36

5.14	Expressão de proteínas musculares	38
5.15	Análise estatística	39
6	RESULTADOS	40
6.1	Participantes	40
6.2	Força Dinâmica Máxima	41
6.3	Avaliação Nutricional	42
6.4	Insulina e Glicemia	44
6.5	Perfil Lipídico	46
6.6	Concentração de Citocinas	47
6.7	Expressão de Proteínas Musculares	53
7	DISCUSSÃO	57
8	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	