UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

**Efeito da suplementação crônica com leucina na
composição corporal e no estado protéico de ratos submetidos
à restrição alimentar e a período de recuperação nutricional**

Rogério Graça Pedrosa

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Julio Orlando Tirapegui Toledo

São Paulo
2007

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Pedrosa, Rogerio Graça
P372ef Efeito da suplementação crônica com leucina na composição
corporal e no estado protéico de ratos submetidos à restrição
alimentar e a período de recuperação nutricional / Rogerio
Graça Pedrosa -- São Paulo, 2007.
93p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição
Experimental
Orientador: Tirapegui Toledo, Julio Orlando

I. Bioquímica nutricional 2. Obesidade: Nutrição: Doenças
metabólica I. T. II. Tirapegui Toledo, Julio Orlando, orientador

641.1 CDD

Rogério Graça Pedrosa

**Efeito da suplementação crônica com leucina na
composição corporal e no estado protéico de ratos submetidos
à restrição alimentar e a período de recuperação nutricional**

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof. Dr. Julio Orlando Tirapegui Toledo
Orientador/Presidente

Profa. Dra. Sandra Maria Lima Ribeiro
1º. examinador

Profa. Dra. Patrícia Helen de Carvalho Rondó
2º. examinador

Prof. Dr. Paulo de Aguiar Prouvot
3º. examinador

Profa. Dra. Primavera Borelli
4º. examinador

São Paulo, 28 de Junho de 2007.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Relatório de Defesa

Relatório de defesa pública de Tese do(a) Senhor(a) Rogerio Graça Pedrosa no Programa: Ciência dos Alimentos, do(a) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Aos 28 dias do mês de junho de 2007, no(a) Auditório Paulo C. Ferreira realizou-se a Defesa da Tese do(a) Senhor(a) Rogerio Graça Pedrosa, apresentada para a obtenção do título de Doutor em Ciência dos Alimentos - Área: Nutrição Experimental, intitulada:

"Efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado protéico de ratos submetidos à restrição alimentar e a período de recuperação nutricional"

Após declarada aberta a sessão, o(a) Sr(a) Presidente passa a palavra aos examinadores para as devidas arguições que se desenvolvem nos termos regimentais. Em seguida, a Comissão Julgadora proclama o resultado: APROVADO POR UNANIMIDADE

Nome dos Participantes da Banca	Vínculo do Docente	Sigla da Unidade	Resultado
Julio Orlando Tirapegui Toledo	Presidente	FCF - USP	APROVADO
Patricia Helen de Carvalho Rondo	Suplente	FSP - USP	APROVADO
Primavera Borelli Garcia	Titular	FCF - USP	APROVADO
Sandra Maria Lima Ribeiro	Titular	EACH - USP	APROVADO
Paulo de Aguiar Prouvot	Titular	Docente Externo	APROVADO
Resultado Final: <u>Aprovado</u>			
Parecer da Comissão Julgadora *			

Comentários da Defesa (opcional)

Eu, Monica Dealis Perussi Monica Dealis Perussi, Secretária, lavrei a presente ata, que assino juntamente com os(as) Senhores(as). São Paulo, aos 28 dias do mês de junho de 2007.

Patricia H.C. Rondo
Patricia Helen de Carvalho Rondo

Primavera Borelli Garcia
Primavera Borelli Garcia

Sandra Maria Lima Ribeiro
Sandra Maria Lima Ribeiro

Paulo de Aguiar Prouvot
Paulo de Aguiar Prouvot

Julio Orlando Tirapegui Toledo
Orientador(a)

* Obs: Se o candidato for reprovado por algum dos membros, o preenchimento do parecer é obrigatório.

Nos termos do artigo 110, do RG-USP, encaminhe-se o presente relatório à CPG, para homologação.

Impresso em: 28/06/2007

Aos meus pais e irmãos pelo apoio fundamental e constante,
e por ficarem felizes com que faço, apesar da saudade.

À Cleyde Rodrigues Amorim e ao Érico Amorim Pedrosa, pela paz, carinho e
motivação necessários para a conclusão deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Julio Orlando Tirapegui Toledo, pela oportunidade, orientação, amizade e por sempre acreditar nos trabalhos realizados por mim e por meus colegas que compõem a equipe de seu laboratório.

À Profa. Dra. Inar Alves de Castro, pela amizade e pela valiosa ajuda na realização dos testes estatísticos necessários para a conclusão deste trabalho.

Aos Professores Doutores Sandra Maria Lima Ribeiro, Patrícia Helen de Carvalho Rondó, Paulo de Aguiar Prouvot e Primavera Borelli, pela valiosa colaboração durante a defesa deste trabalho.

Aos Professores Doutores Sandra Maria Lima Ribeiro e Mario Hiroyuki Hirata, pela valiosa colaboração durante o exame de qualificação deste trabalho.

À Profa. Dra. Sandra Maria Lima Ribeiro, pela consideração e pela doação dos testes de leptina sérica, os quais serviram para o enriquecimento deste trabalho.

Aos Professores Doutores Marcelo Eustáquio Silva, Dirceu do Nascimento e Rinaldo Cardoso dos Santos, da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), pelo incentivo e apoio dados aos meus primeiros passos no campo da pesquisa.

Ao amigo José Donato Junior, pela consideração, pelo companheirismo no trabalho e nos bares e pelas discussões, que foram essenciais para a conclusão dessa jornada.

À amiga Ivanir Santana de Oliveira Pires, pela consideração, pelo companheirismo no trabalho e nos bares, e pela dedicação e carinho na realização das análises laboratoriais desse trabalho.

Ao amigo Marcelo Macedo Rogero, pela consideração e pelo companheirismo durante o Mestrado, que foi muito proveitoso.

Aos amigos do laboratório: Aline Guimarães Amorim, Maria Carolina Borges e, em especial, Vinícius Fernandes Cruzat, pelo companheirismo e pela ajuda, que foram essenciais para a conclusão dessa jornada.

Aos amigos do laboratório: Camila Maria de Mello, Érica Martins, Jonas Alves de Araújo Junior, Luciana Rossi, Michele Trindade, Sílvia Rocca e Soraya Rodrigues Doderio pelo companheirismo durante a realização deste trabalho, e por deixar as coisas mais divertidas.

Aos amigos, pelo incentivo e bons momentos, que tornaram essa caminhada um pouco mais tranquila.

Aos funcionários do Bloco 14, pelo auxílio, que foi fundamental para realização deste trabalho e pelos momentos descontraídos.

Aos funcionários do Biotério de Produção e Experimentação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pelo auxílio na realização deste trabalho.

Aos funcionários da Faculdade de Farmácia, em especial ao Jorge Alves de Lima e a Elaine Midori Ychico, pelo auxílio, que foi fundamental para realização deste trabalho.

Aos funcionários da Biblioteca do Conjunto das Químicas, pelo auxílio, que foi fundamental para realização deste trabalho.

RESUMO

PEDROSA, R. G. **Efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado protéico de ratos submetidos à restrição alimentar e a período de recuperação nutricional.** São Paulo, 2007. [Defesa de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].

Diversos estudos demonstraram que a administração aguda de leucina é capaz de estimular a síntese protéica. Contudo, poucos estudos verificaram os efeitos crônicos dessa suplementação em parâmetros que refletem o estado nutricional protéico (ENP). O presente estudo avaliou o efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado protéico de ratos submetidos à restrição alimentar (RA) e a período de recuperação nutricional (RN). Foram realizados dois experimentos com 88 ratos Wistar machos e adultos que foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente climatizado e com ciclo biológico de 12 h claro/12 h escuro. No experimento I, 28 animais foram distribuídos em dois grupos: CON (ração AIN93-M) (n = 15) e LEU (ração suplementada com 0,59 % de L-leucina) (n = 13) e submetidos à RA de 50 % por seis semanas. No experimento II, 60 animais foram distribuídos em dois grupos: CON (ração AIN93-M) (n = 30) e LEU (ração suplementada com 0,59 % de L-leucina) (n = 30) e submetidos à RA de 50 % durante uma semana. Findo o período, 15 animais de cada grupo foram sacrificados; o restante dos animais (n = 15 por grupo) foi submetido a duas semanas de RN com suas respectivas rações. No período de RN, as rações foram consumidas *ad libitum*. Avaliou-se: a composição química da carcaça; a massa de órgãos e do músculo gastrocnêmio; os conteúdos e as concentrações de proteína, RNA e DNA no fígado e no músculo gastrocnêmio; as concentrações séricas de IGF-1, corticosterona, leptina, proteínas totais, albumina e globulina; e as concentrações plasmáticas de uréia e glicose. No experimento I, a suplementação reduziu a gordura corporal e aumentou as concentrações de proteína hepática e de RNA muscular. No experimento II, não houve alterações na massa do intestino e nos conteúdos de proteína e de RNA no fígado dos animais suplementados durante os períodos de RA e RN. A suplementação com leucina aumentou a uremia dos animais do grupo LEU, em relação ao grupo CON, após RN. Não houve diferença significativa na concentração de corticosterona sérica e no conteúdo protéico da carcaça e de tecidos específicos nos animais suplementados. Os resultados obtidos permitem sugerir que a suplementação crônica com leucina aumenta a perda de gordura e melhora alguns parâmetros do ENP na RA em longo prazo, sem alterar o conteúdo protéico da carcaça e de tecidos específicos. Também permitem sugerir que essa suplementação melhora alguns parâmetros do ENP durante variação de peso corporal.

Palavras-chave: Leucina. Estado nutricional protéico. Redução de peso. Recuperação nutricional.

ABSTRACT

PEDROSA, R. G. **Effect of the chronic supplementation with leucine on the body composition and on protein status of rats submitted to dietary restriction followed by a period of dietary recovery.** São Paulo, 2007. [Defesa de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].

Several studies have demonstrated that the acute administration of leucine is capable of stimulating protein synthesis. However, few studies have investigated the chronic effects of this supplementation as to the parameters that reflect the protein nutritional state (PNS). With this in mind, the aim of this study was to evaluate the effect of the chronic supplementation with leucine on body composition and protein state of rats submitted to food restriction (FR) and a subsequent nutritional recovery period (NR). Two experiments were carried out, using 88 adult male Wistar rats that were kept in individual metabolic cages, in an acclimatized environment with a 12-hour dark-light cycle. In experiment I, 28 animals were distributed into 2 groups: CON (fed an AIN93-M ration, n=15) and LEU (fed a ration supplemented with 0.59% L-leucine, n=13), both groups being submitted to 50% FR with their respective rations, during 6 weeks. In experiment II, 60 animals were distributed into two groups: CON (fed an AIN93-M ration, n=30) and LEU (fed a ration supplemented with 0.59% L-leucine, n=30), both groups being submitted to 50% FR with their respective rations, during 1 week. After this period, 15 animals belonging to each group were sacrificed. The remaining animals (n=15 per group) were submitted to a further 2 weeks of NR each with their respective rations. The period of NR was characterised by ration consumption *ad libitum*. The chemical composition of the carcass; the mass of the viscera and of the gastrocnemius muscle; protein, RNA and DNA concentration and content of the liver and gastrocnemius muscle; the serum concentrations of IGF-1, corticosterone, leptin, total protein, albumin and globulin; and the plasma concentrations of urea and glucose were determined. The results of experiment I showed that supplementation with leucine reduced the amount of body fat and increased the concentrations of liver protein as well as that of muscle DNA after 6 weeks of FR. The supplementation with leucine also increased uremia of the animals belonging to the LEU group with respect to those of the CON group. However, there was no significant difference in the concentration of serum corticosterone and in the protein content of the carcass and specific tissues of the animals subjected to supplementation. We can therefore suggest that supplementation with leucine increases the loss of body fat and improves parameters of the PNS in FR in the long run, without, however, altering the protein content of the carcass and specific tissues. It can also be said that this supplementation improves some of the parameters of the PNS throughout the variation of body weight.

Keywords: Leucine. Nutritional protein status. Weight loss. Dietary recovery.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACR	Aminoácido de cadeia ramificada
ASB	Albumina do soro bovino
CON	Grupo controle
EPIETOA	<i>Expert Panel on The Identification, Evolution, and Treatment of Overweight in Adults</i>
ETA	Efeito térmico dos alimentos
GMB	Gasto energético basal
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor-1</i> (fator de crescimento semelhante à insulina)
LEU	Grupo leucina
MG	Massa gorda
MM	Massa magra
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NK	<i>Natural killer</i>
RA	Restrição alimentar
RN	Recuperação nutricional
TM	Tecido magro
VPC	Variação do peso corporal

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	01
2. JUSTIFICATIVA	03
3. OBJETIVOS	04
4. REVISÃO DA LITERATURA	05
5. MATERIAL E MÉTODOS	28
6. RESULTADOS	42
7. DISCUSSÃO	63
8. CONCLUSÕES	76
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
10. ANEXOS	

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Predição do risco de complicações metabólicas a partir da medida da circunferência abdominal	07
Tabela 2. Percentual de nitrogênio e de proteína nas rações oferecidas aos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU) dos experimentos I e II	42
Tabela 3. Peso corporal (g) dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU) no início e final do experimento, além do peso corporal perdido durante as seis semanas de restrição alimentar de 50 %	43
Tabela 4. Massa e composição química da carcaça em termos absolutos (g) dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %	45
Tabela 5. Composição química da carcaça em termos percentuais (%) dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %	45
Tabela 6. Massa de órgãos e músculos (g) dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %	46
Tabela 7. Conteúdos e concentrações de proteína, DNA e RNA no fígado dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %	47
Tabela 8. Conteúdos e concentrações de proteína, DNA e RNA no músculo gastrocnêmio dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %	48
Tabela 9. Concentrações séricas de proteínas totais, albumina e leptina dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %	49

	Pág.
Tabela 10. Consumo de ração dos animais dos grupos CON e LEU, submetidos a duas semanas de recuperação nutricional com ração <i>ad libitum</i>	50
Tabela 11. Peso corporal inicial, após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração <i>ad libitum</i> (T1), nos grupos controle (CON) e leucina (LEU)	51
Tabela 12. Massa e composição química da carcaça, em termos absolutos (g), dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração <i>ad libitum</i> (T1)	53
Tabela 13. Composição química da carcaça, em termos percentuais (%), dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e duas semanas de recuperação nutricional com ração <i>ad libitum</i> (T1)	54
Tabela 14. Peso de tecidos e órgãos (g) dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração <i>ad libitum</i> (T1).....	56
Tabela 15. Conteúdos e concentrações de proteína, RNA e DNA no fígado dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração <i>ad libitum</i> (T1)	59
Tabela 16. Conteúdos e concentrações de proteína, RNA e DNA no músculo gastrocnêmio dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração <i>ad libitum</i> (T1)	60
Tabela 17. Concentrações de IGF-1, corticosterona, proteínas totais, albumina, globulina, uréia e glicose dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração <i>ad libitum</i> (T1)	62

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Relação entre IMC e mortalidade. IMC abaixo de 20 kg/m ² e acima de 25 kg/m ² está associado com o aumento do risco relativo de morte para homens e mulheres	06
Figura 2. Desenho experimental do estudo I	29
Figura 3. Desenho experimental do estudo II	30
Figura 4. Peso corporal no decorrer do EXPERIMENTO I: CON, grupo com ração controle (n = 15); LEU, grupo suplementado com leucina (n = 13)	44
Figura 5. Correlação (Pearson) entre a concentração de leptina sérica e a quantidade de gordura corporal (n = 8-10/grupo; r = 0,8801; p < 0,0001)	49

1. INTRODUÇÃO

A incidência de sobrepeso e obesidade assumiu proporções epidêmicas na população mundial (KOPELMAN, 2000). A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, o qual traz prejuízos à saúde do indivíduo (PI-SUNYER, 2000). A redução de peso corporal em indivíduos com sobrepeso ou obesidade tem sido associada com a diminuição de risco e com o controle de doenças como diabetes mellitus do tipo II e cardiopatias (*Expert Panel on The Identification, Evolution, and Treatment of Overweight in Adults - EPIETOA*, 1998). Diante destas evidências é recomendado que indivíduos apresentando sobrepeso ou obesidade sejam submetidos a algum tratamento para perda de peso corporal, a fim de reduzir as chances de mortalidade precoce e controlar doenças relacionadas ao excesso de gordura corporal (EPIETOA, 1998; KOPELMAN, 2000).

As estratégias de emagrecimento mais descritas são: dietas, exercícios físicos, fármacos, cirurgias e terapias comportamentais (FUJIOKA, 2002). Tratamentos convencionais, como a restrição calórica e o exercício físico, têm sido os mais utilizados e recomendados para perda de peso (GARROW & SUMMERBELL, 1995). A restrição calórica geralmente tem destaque nos programas de emagrecimento por proporcionar maior redução de peso, sendo muitas vezes utilizada como única estratégia (DISTSCHUNEIT, 1999). No entanto, a redução de peso e gordura corporal alcançada por meio da restrição calórica quase sempre é acompanhada pela diminuição da massa corporal magra (MM) (GARROW & SUMMERBELL, 1995). Por outro lado, tem sido verificado que a quantidade de MM perdida durante a fase de redução de peso é maior que a quantidade acrescida durante a fase de recuperação do mesmo (VAN DALE, SARIS & TEN HOOR, 1990; KAJIOKA *et al.*, 2002).

Atualmente existem evidências de que dietas com maior proporção de proteína promovem maior perda de peso, maior redução de gordura corporal e diminuem a perda de MM durante o emagrecimento, quando comparadas a dietas com menos proteína e de mesmo valor calórico (LAYMAN *et al.*, 2003; FARNSWORTH *et al.*, 2003, BUCHHOLZ & SCHOELLER, 2004, HALTON & HU, 2004; LAYMAN *et al.*, 2005). Contudo, os mecanismos relacionados aos

efeitos da dieta rica em proteína na redução de peso e na composição corporal ainda não são conhecidos. Sugere-se que parte dos benefícios promovidos pela dieta com maior proporção de proteína na composição corporal pode ser atribuída à maior ingestão de aminoácidos de cadeia ramificada (ACR) (LAYMAN *et al.*, 2003; LAYMAN & BAUM, 2004; LAYMAN *et al.*, 2006). Segundo esta hipótese, a maior oferta de proteína não seria apenas para aumentar a disponibilidade de substratos (aminoácidos) para a síntese protéica, mas, também, para estimular processos anabólicos que são observados a partir da maior ingestão dos ACR, particularmente do aminoácido leucina.

2. JUSTIFICATIVA

A redução de peso corporal ocasionada por meio de dieta tem sido associada com a diminuição tanto da gordura corporal quanto da MM (GARROW & SUMMERBELL, 1995; PEDROSA *et al.*, 2004a,b). Diante do efeito desfavorável da redução de peso na MM algumas estratégias foram utilizadas com o objetivo de prevenir, ou ao menos atenuar, a perda de MM durante o processo de emagrecimento voluntário (BALLOR & POEHLMAN, 1994; ROSS, PEDWELL & RISSANEN, 1995; GARROW & SUMMERBELL, 1995). Existem evidências de que dietas com maior proporção de proteína aumentam a perda de peso e de gordura corporal e diminuem a perda de MM durante o emagrecimento (LAYMAN *et al.*, 2003; FARNSWORTH *et al.*, 2003, BUCHHOLZ & SCHOELLER, 2004, HALTON & HU, 2004; LAYMAN *et al.*, 2005). Alguns autores sugerem que parte dos benefícios observados nestas dietas pode ser atribuída às propriedades anabólicas que são observadas a partir da maior ingestão dos ACR, particularmente do aminoácido leucina (LAYMAN *et al.*, 2003; LAYMAN & BAUM, 2004; LAYMAN *et al.*, 2006). Além disso, existem evidências que a leucina pode favorecer o estado nutricional protéico durante período de recuperação nutricional (VENTRUCCI *et al.*, 2004). Diante disso, o presente estudo testou a hipótese de que a suplementação crônica com leucina pode alterar favoravelmente a composição corporal e o estado nutricional protéico em ratos adultos submetidos à restrição alimentar de 50 % e a período de recuperação nutricional.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar o efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado nutricional protéico de ratos submetidos à restrição alimentar e a período de recuperação nutricional.

Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado nutricional protéico de ratos submetidos a seis semanas de restrição alimentar de 50 %;
- Avaliar o efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado nutricional protéico de ratos submetidos a uma semana de restrição alimentar de 50 %;
- Avaliar o efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado nutricional protéico de ratos submetidos a uma semana de restrição alimentar de 50 %, seguida de duas semanas de recuperação nutricional com dieta *ad libitum*.

4. REVISÃO DA LITERATURA

Obesidade e a recomendação para redução de peso corporal

A obesidade é considerada, há algum tempo, um problema de saúde pública em alguns países desenvolvidos, como os Estados Unidos da América e a Inglaterra (FRIEDMAN, 2000). Atualmente, sua prevalência tem aumentado também nos países em desenvolvimento, como a Rússia, a China e o Brasil (POPKIN, 2001). No Brasil, a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), realizada entre os anos 2002 e 2003, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em conjunto com o Ministério da Saúde, constatou que o excesso de peso corporal afetava 40,5% dos indivíduos adultos do país, sendo que a obesidade afetava 8,9% dos homens e 13,1% das mulheres. Ou seja, num universo de 95,5 milhões de indivíduos há 38,7 milhões com excesso de peso corporal (BRASIL, 2005). Mudanças nos hábitos alimentares, tais como aumento do consumo de alimentos densamente calóricos, redução do consumo de cereais, frutas e vegetais, e alterações nos padrões de atividade física (aumento do sedentarismo), são consideradas os principais fatores causadores do aumento da obesidade nestes países, apesar de suas diferenças econômicas e culturais (POPKIN, 2001; UAUY, AIBALA & KAIN, 2001).

Define-se a obesidade como doença crônica multifatorial que se desenvolve pela interação do genótipo com o meio ambiente, ou seja, de fatores sociais, comportamentais, culturais, metabólicos e genéticos (EPIETOA, 1998). Essa enfermidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, o qual traz prejuízos à saúde do indivíduo, principalmente quando concentrada na região abdominal (PI-SUNYER, 2000). Notadamente, é relatado que indivíduos adultos com sobrepeso (índice de massa corpórea [IMC] de 25 kg/m² ou mais) e com obesidade (IMC de 30 kg/m² ou mais) têm maior risco de mortalidade precoce (Figura 1) e apresentam maior probabilidade de desenvolvimento de morbidades como hipertensão, dislipidemias, diabetes mellitus do tipo II, cardiopatias, osteoartrite, complicações respiratórias e alguns tipos de câncer (KOPELMAN, 2000). Por exemplo, entre mulheres com IMC $\geq$ 32 kg/m², não tabagistas, os riscos

relativos de morte por doenças cardiovasculares e câncer são 4,1 e 2,1 maiores, respectivamente, quando comparados aos encontrados entre mulheres com IMC considerado normal (MANSON *et al.*, 1995).

Figura 1. Relação entre IMC e mortalidade. IMC abaixo de 20 kg/m² e acima de 25 kg/m² está associado com o aumento do risco relativo de morte para homens e mulheres. Adaptado de O'Connell, 2004.

A redução de peso corporal e a conseqüente redução de gordura corporal, em indivíduos com sobrepeso ou obesidade, tem sido associada com a diminuição de risco e com o controle de doenças como diabetes mellitus do tipo II, cardiopatias e câncer (EPIETOA, 1998). Por exemplo, uma redução de peso de 10 kg em indivíduos obesos foi associada à redução de 20 a 25 % na taxa de mortalidade, à redução de 30 a 40 % das mortes por diabetes e de 40 a 50 % das mortes por câncer (LABID, 2003). Esses resultados estão estreitamente ligados com a melhora do perfil de biomarcadores relacionados com essas morbidades como, por exemplo, a redução na concentração plasmática de glicose, insulina, triacilgliceróis e lipoproteínas de baixa densidade (LDL); aumento na concentração plasmática de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e redução da pressão sanguínea sistólica e diastólica (EPIETOA, 1998). Diante destas evidências é recomendado que indivíduos apresentando sobrepeso ou obesidade se submetam a algum tratamento para

perda de peso corporal, a fim de reduzir as chances de mortalidade e controlar doenças relacionadas ao excesso de gordura corporal (KOPELMAN, 2000). De acordo com o Instituto Americano de Saúde (*National Institutes of Health* - NIH), são indicados ao tratamento indivíduos adultos com IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ e indivíduos adultos com IMC entre 25 e $29,9 \text{ kg/m}^2$, quando portadores de dois ou mais fatores de risco ou de circunferência abdominal maior do que 102 cm para homens e 88 cm para mulheres (Tabela 1) (NIH, 1998). Portanto, o excesso de peso corporal pode ser prejudicial para a saúde do indivíduo e sua redução é apontada como a melhor forma de prevenir ou controlar morbidades associadas.

Tabela 1. Predição do risco de complicações metabólicas a partir da medida da circunferência abdominal

	Risco aumentado	Risco aumentado substancialmente
Homem	94 – 102 cm	> 102 cm
Mulheres	80 – 88 cm	> 88 cm

Fonte: Adaptado de Kopelman (2000) e de Labid (2003).

As estratégias de emagrecimento mais descritas para o tratamento da obesidade são: dietas, exercícios físicos, fármacos, cirurgias e terapias comportamentais, as quais podem ser combinadas em algumas circunstâncias, que dependem do peso do paciente, das comorbidades associadas e do objetivo do tratamento (FUJIOKA, 2002). Tratamentos convencionais, como a restrição calórica e o exercício físico, são os mais utilizados para redução de peso e de gordura (GARROW & SUMMERBELL, 1995). A restrição calórica geralmente merece destaque nos programas de emagrecimento, sendo muitas vezes utilizada como única estratégia (DISTSCHUNEIT, 1999). Recentemente, tem sido observado aumento no tipo e número de cirurgias para tratamento da obesidade grave (DEITEL & SHIKORA, 2002; ZIZZA, 2003). O tratamento cirúrgico é indicado para

indivíduos com obesidade grave, ou seja, indivíduos com IMC maior que 40 kg/m² ou maior que 35 kg/m² com comorbidades associadas de importância clínica e que não conseguiram reverter essa situação com outras formas de tratamento (KRAL, 2001; ZIZZA, 2003). Este tipo de tratamento pode ter efeito expressivo na redução de peso corporal, como revelado pelos dados de um registro internacional sobre cirurgia bariátrica, realizado em 14.000 pacientes, que mostra que a perda de peso corporal ocasionada pela gastroplastia e pelas derivações gástricas, após período de 12 meses, foi de 55 % e 72 % do excesso de peso corporal, respectivamente (BAXTER, 2001).

Pequenas reduções no peso corporal (5 a 10 %) são associadas com melhora significativa do controle da glicemia, da dislipidemia e da hipertensão arterial (NIH, 1998). Embora redução de 10 % do peso corporal seja considerada, por muitos especialistas da área, um sucesso no tratamento da obesidade, baseado na melhora das comorbidades associadas, a meta de perda de peso pelos indivíduos obesos é sempre maior (NIH, 1998). Este último fato foi observado em um estudo conduzido por Foster *et al.* (1997), que verificaram que 60 mulheres obesas tinham como meta perder, em média, 32 % do peso corporal durante o tratamento. Neste mesmo estudo, também foi verificado que as pacientes consideraram a redução de peso de 25 % satisfatória e a perda de 17 % insatisfatória. Dessa maneira, uma redução de intensidade moderada à severa do peso corporal pode ser mais freqüente entre aqueles que se submetem ao emagrecimento voluntário.

Redução de peso e sua consequência na composição corporal

Em geral, os tratamentos para a redução de peso corporal têm como princípio a criação de balanço energético negativo, isto é, a ingestão calórica diária do indivíduo deve ser menor que seu gasto energético diário. Diante de tal situação, o organismo precisa utilizar suas reservas energéticas para manter suas funções orgânicas e seus processos metabólicos, resultando em perda de massa corporal (HEYMSFIELD *et al.*, 1989; ROSS & RISSANEN, 1994). Esse déficit de energia pode provocar uma série de adaptações metabólicas no

organismo com o intuito de preservar a massa corporal. Dentre essas adaptações, podem ser citadas as alterações na utilização de substratos metabólicos, a mudança na composição corporal, as alterações no apetite e a redução no gasto metabólico basal (GMB) (PRENTICE *et al.*, 1991).

Apesar das adaptações do metabolismo para preservar a massa corporal, a perda de peso, ocasionada por tratamentos como a restrição calórica e cirurgia, geralmente é acompanhada da redução de massa magra (MM), que é dependente do grau e do tempo do déficit energético imposto (HILL *et al.*, 1987; NIEMAN *et al.*, 1988; HEYMSFIELD *et al.*, 1989; MARKS *et al.*, 1995; GEMERT *et al.*, 2000). Em um estudo conduzido por Hill *et al.* (1987) foi constatado que mulheres obesas, seguindo dieta de 800 kcal/dia, durante período de 5 semanas, perderam 8 kg do seu peso corporal, sendo este composto de 57 % de MM e 43 % de gordura corporal. Nieman *et al.* (1988) verificaram em seu estudo que uma dieta de 1.268 kcal/5 semanas causou redução de peso corporal de 5,5 kg em mulheres obesas, dos quais aproximadamente 11 % eram compostos de MM. Já Marks *et al.* (1995) não observaram redução significativa do percentual de MM (-0,5 %) de mulheres obesas, que perderam 3,7 kg após seguiram dieta de 1.177 kcal/20 semanas.

A influência da duração da perda de peso na composição corporal foi observada no estudo realizado por Gemert *et al.* (2000), que avaliaram as alterações na composição corporal de indivíduos submetidos à Gastroplastia Vertical com Bandagem para tratamento da obesidade grave, procedimento que é baseado na restrição mecânica à ingestão de alimentos. Neste estudo, foi verificado que após três meses da cirurgia os indivíduos perderam, aproximadamente, 26,3; 8,8 e 17,5 kg de peso, de MM e de massa gorda (MG), respectivamente. Foi constatado, também, que 9 meses após esse período, a perda de peso, de MM e de MG, foi, respectivamente, de 20; 0,6 e 19,4 kg, mostrando que a perda de MM diminui substancialmente em relação à perda de peso observada durante esses períodos.

A utilização de substratos metabólicos pelo organismo para a formação de energia, durante programa de redução de peso corporal, foi bem documentada em estudo que submeteu um grupo de mulheres obesas à dieta de 900 kcal/dia, durante um período de cinco semanas (HEYMSFIELD *et al.*,

1989). O período de restrição calórica foi iniciado com uma fase de perda rápida de peso corporal, a qual se estendeu por uma semana. Essa rápida diminuição na massa corpórea é ocasionada, principalmente, pelo efeito diurético inicial da subnutrição. Este efeito é consequência da taxa de oxidação das reservas de glicogênio do organismo, que promove liberação de água associada a esse composto nos tecidos (glicogênio:água = 1 g:2-4 g), e da taxa de oxidação máxima de proteínas, com liberação da água associada (proteína:água = 1 g:3 g). A perda de gordura representou 30 a 40 % do peso corporal perdido durante essa fase inicial. A partir do fim da primeira semana, a quantidade de massa corporal perdida foi reduzida para aproximadamente a metade da perda inicial, devido à diminuição da perda do tecido muscular. Paralelamente a isso, a taxa de oxidação das reservas de gordura aumentou e essas passaram a representar 50 a 70 % do peso corporal perdido. Portanto, esses estudos demonstram que a perda da MM diminui com o prolongamento da restrição calórica.

O percentual de gordura corporal, no início do tratamento, também é considerado fator interferente da composição da perda de peso (FORBES, 1987 e 2000). Forbes (1987) assume que um indivíduo com peso considerado normal, ao perder 25 kg, poderia ter uma perda concomitante de MM de aproximadamente 15 kg. Enquanto que um indivíduo obeso, ao perder 10 kg, perderia apenas de 2 a 3 kg de MM. A influência da quantidade de gordura corporal na perda de MM durante um tratamento para redução de peso foi verificada por Leibel, Rosenbaum & Hirsch (1995) em um estudo que submeteu indivíduos obesos e não-obesos à dieta líquida de 800 kcal. Estes autores observaram que a perda de MM foi de 16,7 e 36 % do peso corporal perdido, em obesos e não-obesos, respectivamente. Além do grau da restrição calórica, da duração do tratamento e do percentual de gordura no início do tratamento, outros fatores como o genótipo, a composição da dieta utilizada no tratamento, a incorporação do exercício físico no programa e o uso de fármacos, podem influenciar as alterações na composição corporal durante a redução de peso corporal (PRENTICE *et al.*, 1991). Episódios freqüentes de perda e recuperação do peso corporal ou, variação do peso corporal (VPC), também são considerados um fator que pode alterar a composição corporal de um indivíduo, resultando em maior razão de gordura corporal para MM.

VPC e sua influência na composição corporal

Dados epidemiológicos revelam que a VPC é bastante freqüente entre as pessoas (FIELD *et al.*, 2003; FIELD *et al.*, 2004). Field *et al.* (2003) observaram, no estudo prospectivo com duração de dois anos, realizado com pré-adolescentes e adolescentes, que 25 % das meninas e 13,8 % dos meninos fizeram algum tipo de dieta para emagrecer, e que 4,5 % das meninas e 2,2 % dos meninos eram adeptos freqüentes de dietas para emagrecimento. A partir dos dados do estudo *Nurses' Health Study II*, cuja amostragem consistiu de 46.634 mulheres jovens e de meia-idade, foi observado que 1,6 % dessas mulheres variaram mais de 9 kg do peso corporal, pelo menos três vezes entre os anos 1989 e 1993, e que 20 % variaram 4,5 kg ou menos, considerando a mesma freqüência e o mesmo período de tempo (FIELD *et al.*, 2004).

Alguns estudos mostram que a VPC pode aumentar o risco de ganho de peso, favorecer o acúmulo de gordura corporal e representar um fator de risco à saúde (RODIN *et al.*, 1990; BENINI *et al.*, 2001; KROKE *et al.*, 2002; WALLNER *et al.*, 2004). Kroke *et al.* (2002) avaliaram 18.001 indivíduos com o objetivo de verificar se o histórico de mudança no peso corporal e de VPC aumentava o risco desses indivíduos em ganhar peso, durante os dois anos subseqüentes de acompanhamento. Esses pesquisadores verificaram que o histórico de VPC foi associado ao maior risco de ganho de peso durante os dois anos de acompanhamento, tanto para homens quanto para mulheres (4,8 e 3,0 vezes mais risco de ganho de peso, respectivamente, para homens e mulheres). Outros estudos observaram que indivíduos que variavam de peso regularmente apresentavam aumento significativo no percentual de gordura corporal e na quantidade de gordura abdominal, fatores que estão associados com o maior risco de doenças cardiovasculares (RODIN *et al.*, 1990; BENINI *et al.*, 2001; WALLNER *et al.*, 2004). Em um estudo realizado em nosso laboratório foi observado que ratos submetidos à VPC apresentaram maior percentual de gordura na carcaça (+36 %) do que ratos controle, apesar do consumo equivalente de ração (dados não publicados).

Ainda em relação à composição corporal, tem sido verificado que a quantidade de MM perdida durante a fase de redução de peso é maior que a

quantidade incorporada durante a fase de recuperação do mesmo (VAN DALE, SARIS & TEN HOOR, 1990; KAJIOKA *et al.*, 2002). Van Dale, Saris & Ten Hoor (1990), observaram em um estudo realizado com 18 indivíduos, os quais perderam 14 kg após seguirem uma dieta com valor muito baixo de caloria, que a quantidade de MM incorporada durante a fase de recuperação de peso equivalia à metade da MM perdida durante a fase de perda. De um total de 9 kg recuperados, 1,2 kg era composto de MM, enquanto que na fase de perda de peso a quantidade de MM perdida foi de 2,6 kg. Kajioka *et al.* (2002) avaliaram o efeito da VPC intencional na composição corporal de cinco mulheres, saudáveis e sem obesidade, submetidas a dois ciclos de perda e recuperação de peso corporal. Neste estudo, foi constatado que após o segundo período de recuperação de peso corporal a quantidade de MM era menor do que à mensurada antes da VPC. Assim, estas evidências podem indicar provável prejuízo do estado nutricional protéico durante a VPC. Tal fato, porém, não foi comprovado em outros estudos (HEITMANN & GARBY, 1998 e 2002).

Definição, funções e os efeitos da redução da MM

A MM pode ser definida como a massa corporal total menos o tecido adiposo (ROSS & RISSANEN, 1994; COMIZIO *et al.*, 1998). A MM é o principal determinante do GMB e pode representar 70 % do gasto energético total do indivíduo durante período de 24 horas (GEMERT *et al.*, 2000). A redução do GMB que ocorre durante a redução de peso corporal tem sido apontada como um dos fatores que dificultam o emagrecimento e a preservação do peso corporal perdido após o término desse processo (BALLOR & POEHLMAN, 1995). A MM está relacionada com a integridade do sistema esquelético e sua preservação está associada com a prevenção da osteoporose e com a manutenção da habilidade funcional muscular de um indivíduo com o avanço da idade (MARKS & RIPPE, 1996). A perda da MM também pode influenciar a habilidade do organismo de regular a temperatura corporal, principalmente em situações extremas de temperatura (MARKS & RIPPE, 1996). Por estes e outros motivos, a diminuição da MM durante tratamentos para redução de peso

tem sido investigada em estudos, que tinham, entre outros objetivos, a preservação da MM ou a atenuação de sua perda durante o emagrecimento (GARROW & SUMMERBELL, 1995; PEDROSA *et al.*, 2004a,b).

Por outro lado, alguns autores consideram que a perda de MM é esperada e até aceitável durante o processo de emagrecimento voluntário e, ao mesmo tempo, sugerem a criação de um “grau ótimo” para a redução da MM durante a perda de peso corporal (PRENTICE *et al.*, 1991; MARKS & RIPPE, 1996). Prentice *et al.* (1991) sugerem que a perda de peso corporal obedecendo razão de 75 % de gordura e 25 % de MM, como massa corporal perdida, pode ser aceitável para indivíduos com obesidade. Este conceito tem como base o fato de existir aumento de MM durante o processo de ganho de peso corporal, a qual serve para a sustentação do novo peso corporal. Acredita-se que um excedente de 5 % (cerca de 100 kcal) na ingestão de energia, recomendada diariamente, proporcionaria ganho de peso corporal de aproximadamente 6 a 7 kg, após um período de cinco anos. Nesse processo, cerca de 75 % do peso corporal novo é incorporado na forma de gordura corporal e 25 % na forma de MM (WEINSIER, BRACCO & SCHUTZ, 1993). Também é sugerido que a perda de MM entre 20 e 30 % do peso corporal perdido pode ser considerada aceitável e que a perda até 30 % pode ser considerada segura (MARKS & RIPPE, 1996).

Diante do exposto, nota-se que as investigações e discussões sobre os efeitos das estratégias de emagrecimento (dieta, exercício físico e cirurgia bariátrica) na composição corporal de um indivíduo foram baseadas, em grande parte, num modelo que considera apenas dois compartimentos: a MM e a MG. Alguns autores acreditam que este tipo de investigação pode ser insatisfatório, pelo fato de não existir qualquer tipo de diferenciação, neste modelo, dos distintos componentes formadores da MM (ROUBENOFF & KEHAYIAS, 1991; PEDROSA *et al.*, 2004a,b). A MG é considerada um compartimento homogêneo, composto praticamente das reservas de triacilgliceróis do organismo, enquanto que a MM é bastante heterogênea, tanto em sua forma química, quanto em sua forma anatômica (HEYWARD, 1996; COMIZIO *et al.*, 1998). Ao considerar o modelo anatômico para dividir a massa corporal total, a MM pode ser subdividida em outros dois compartimentos: o

primeiro é composto de ossos, tendões e ligamentos; o segundo, denominado de tecido magro (TM), é formado pela soma das proteínas “periféricas” (ou músculo esquelético) e das proteínas “centrais”, que incluem os órgãos, as células do sangue, a medula óssea e o sistema imune (ROUBENOFF & KEHAYIAS, 1991; WANG, PIERSON & HEYMSFIELD, 1992; HEYWARD, 1996). Dessa forma, os efeitos desses tratamentos de emagrecimento na estrutura e, principalmente, nas funções fisiológicas de componentes específicos da MM, mais especificamente do TM, podem ser negligenciados em avaliações da composição corporal, que consideram o modelo de dois compartimentos.

Na década passada, aumentou o número de trabalhos que investigaram os efeitos de algumas estratégias de emagrecimento na estrutura e função de alguns componentes do TM, mais especificamente, sobre o estado protéico visceral e o sistema imune (KATZEFF, OJAMAA & KLEIN, 1995; NIEMAN *et al.*, 1998; SCANGA *et al.*, 1998). O estado protéico visceral é freqüentemente avaliado pela determinação da concentração de uma ou mais proteínas do soro (ex: albumina, transferrina, pré-albumina e proteína transportadora de retinol), cujo principal sítio de síntese é o fígado (CARLSON, 2000). Este órgão é um dos primeiros a ser afetado em um estado de desnutrição causado, por exemplo, pela deficiência de energia e/ou de proteínas. Em tais circunstâncias, a síntese destas proteínas pode ser reduzida e resultar na diminuição das suas concentrações séricas (MARSHALL, 2000). Este fenômeno é uma resposta típica do organismo frente a uma redução na ingestão de alimentos, na qual as proteínas viscerais são degradadas em prol da preservação de proteínas musculares. Ou melhor, durante período de restrição alimentar, algumas vísceras, como o fígado, são reduzidas nos primeiros dias da restrição, enquanto que a perda do músculo esquelético acontece mais tardiamente (FELGINES *et al.*, 1999). Em um estudo, o estado protéico visceral foi investigado sob a influência da restrição protéico-energética e calórica (SHETTH *et al.*, 1979). No estudo foram determinadas as concentrações séricas de pré-albumina e proteína transportadora de retinol em quatro indivíduos obesos, submetidos à restrição protéico-energética e calórica. Os dados obtidos mostraram que, tanto a restrição protéico-energética, quanto a

restrição calórica, foram responsáveis pela redução das concentrações séricas dessas proteínas, após período de 24 dias. Um estudo mais recente, realizado em 40 indivíduos obesos submetidos ao tratamento cirúrgico da obesidade, mostrou que o estado protéico visceral desses indivíduos, avaliado pelas concentrações séricas de proteínas totais, albumina, transferrina, pré-albumina, proteína transportadora de retinol, não estava alterado após período de um ano da cirurgia (VÁZQUEZ *et al.*, 2003). O fator de crescimento semelhante à insulina (ou IGF-1) também tem sido utilizado para avaliar o estado protéico visceral de indivíduos e de animais experimentais diante de situações de restrição calórica e restrição alimentar. Smith, Underwood & Clemmons (1995) avaliaram o efeito da restrição calórica sobre a concentração sérica de IGF-1 em crianças e adultos. Esses autores observaram que, após seis dias de restrição calórica de 50 %, houve redução de 13 e 24 % na concentração sérica de IGF-1 em crianças e adultos, respectivamente. Este efeito também foi observado em animais experimentais, submetidos à restrição alimentar de aproximadamente 60 % (MAXWELL *et al.*, 1999; DEWIL *et al.*, 1999). Em um estudo realizado em nosso laboratório foi observada redução de 44 % na concentração sérica de IGF-1 de ratos submetidos à restrição alimentar de 50 % durante seis semanas (PEDROSA *et al.*, 2004b). Estes dados demonstram que a restrição calórica e a restrição alimentar podem afetar o estado protéico visceral, que pode ser avaliado por uma ou mais das proteínas de origem hepática presentes no sangue.

Quanto ao sistema imune, tem sido estabelecido que a deficiência nutricional, ocasionada pela limitação na ingestão de substratos protéicos, energéticos e de alguns micronutrientes (zinco, ferro, cobre, selênio e vitaminas A, C e E), é um fator determinante da redução da imunocompetência, condição que pode resultar no aumento de risco para infecções (CHANDRA, 2002). Em um estudo realizado em nosso laboratório foi observado que ratos submetidos a seis semanas de restrição alimentar de 50 %, caracterizada pela restrição de todos os nutrientes, apresentaram redução de 37 % na resposta imunológica celular adquirida, determinada pelo teste de hipersensibilidade do tipo tardio. Além disso, houve redução de 18 % na resposta imunológica humoral desses animais, determinada pela dosagem de anticorpos anti-ASB da classe IgG,

quando comparado ao valor obtido de animais com livre acesso à ração (PEDROSA *et al.*, 2004b). Stallone (1994), em seu estudo de revisão sobre as influências de tratamentos para obesidade no sistema imune, relatou que estratégias para redução de peso corporal, utilizando dieta com menos de 800 kcal, são responsáveis por diminuição na resposta imune em indivíduos. Nieman *et al.* (1996) investigaram o efeito da restrição calórica moderada (1.200 – 1.300 kcal) na função imune inata e adquirida em treze mulheres obesas, durante período de 12 semanas. Esses autores verificaram que a redução de peso, embora relativamente moderada ($9,9 \pm 1,4$ Kg), foi associada com redução significativa de algumas funções do sistema imune nessas mulheres. Portanto, essas evidências sugerem que, tanto a restrição calórica severa, quanto a restrição calórica moderada, podem estar relacionadas à imunossupressão.

Diante destes resultados, que mostram alterações no estado protéico visceral e no sistema imune, fica evidente que a avaliação de indivíduos que estejam passando por processo de redução de peso corporal, considerando apenas as alterações ocorridas nos percentuais de MM e MG, não proporciona diagnóstico preciso do estado nutricional desses indivíduos. Pode-se perceber, também, o crescente interesse na identificação dos efeitos colaterais da redução de peso sobre a capacidade funcional da MM, mais especificamente, sobre a função de componentes do TM. Dessa forma, pode ser sugerido que a avaliação de indivíduos que estejam passando por processo de redução de peso voluntário, quando acrescentada de parâmetros que determinam as alterações ocorridas em componentes específicos do TM, pode proporcionar diagnóstico mais preciso do estado nutricional desses indivíduos.

Preservação da MM

Diante do possível efeito desfavorável da redução de peso na MM e de seus componentes, diversos estudos foram realizados com o objetivo de prevenir, ou ao menos atenuar, a perda de MM durante o processo de emagrecimento ocasionado, principalmente, pela restrição calórica (BALLOR &

POEHLMAN, 1994; GARROW & SUMMERBELL, 1995; ROSS, PEDWELL & RISSANEN, 1995). Estratégias como o exercício físico e a maior ingestão de proteínas durante restrição calórica apresentaram resultados positivos com relação à preservação de MM em diversos estudos (BALLOR & POEHLMAN, 1994; GARROW & SUMMERBELL, 1995; ROSS, PEDWELL & RISSANEN, 1995; FARNSWORTH *et al.*, 2003; LAYMAN *et al.*, 2003; JOHNSTON, TJONN & SWAN, 2004; WESTERTERP-PLANTENGA *et al.*, 2004). Além disso, estas combinações têm como objetivo a promoção de maior perda de peso e gordura (LAYMAN *et al.*, 2005).

Exercício físico

A utilização do exercício físico planejado como única estratégia no tratamento da obesidade pode ser limitada, pois, apesar de ser responsável pelo aumento do gasto energético de 24 horas de um indivíduo, o déficit energético criado é relativamente pequeno para ocasionar perda de peso corporal significativa. Isto pode representar redução de 0,08 kg/semana de peso em homens e mulheres, seguindo um programa de exercício aeróbio. Entretanto, os benefícios do exercício físico regular no metabolismo e na saúde de um indivíduo são inúmeros (HORTON & HILL, 1998). Entre esses, podem ser citados o aumento da oxidação de gorduras corporais e a preservação ou o aumento do tecido muscular esquelético (HORTON & HILL, 1998; TSAI, SANDRETTO & CHUNG, 2003). Diante dos efeitos do exercício físico regular na composição corporal de um indivíduo, os quais seguem, em parte, na contramão dos efeitos ocasionados pela restrição calórica, muitos estudos combinaram estas duas estratégias de emagrecimento com o objetivo de encontrar efeito favorável na composição da perda de peso; porém, resultados de diversos estudos mostram-se controversos. Alguns pesquisadores relatam que o exercício físico, combinado com restrição calórica, produz grande perda de peso e de gordura corporal, que é acompanhada da preservação da MM (BALLOR & POEHLMAN, 1994; GARROW & SUMMERBELL, 1995; ROSS, PEDWELL & RISSANEN, 1995). Entretanto, resultados de outros estudos

revelam que não existem benefícios nesses parâmetros, quando são combinados restrição calórica e exercício físico (DONNELLY *et al.*, 1991; BALLOR & POEHLMAN, 1995; KRAEMER *et al.*, 1997). A divergência desses resultados pode ser explicada, em parte, pelos diferentes protocolos utilizados nestes estudos, como por exemplo: grau e duração da restrição calórica; tipo, frequência, intensidade e tempo do exercício físico combinado.

Uma metanálise realizada por Garrow & Summerbell (1995), que reuniu 28 estudos publicados entre 1966 e 1993, verificou o efeito da restrição calórica, com ou sem exercício físico, na composição corporal de indivíduos com sobrepeso. Os resultados demonstraram que, frente à restrição calórica, o exercício aeróbio tem pouco efeito na preservação da MM desses indivíduos, enquanto que o exercício de resistência apresentou efeito maior. Neste mesmo estudo, foi realizada uma análise de regressão, a qual determinou que, para perda de peso de 10 kg obtida com restrição calórica, a perda de MM esperada seria de 2,9 kg para homens e de 2,2 para mulheres. E quando esta perda de peso era alcançada com restrição calórica aliada ao exercício, a perda de MM esperada era de 1,7 kg, para ambos os sexos. Estudos realizados em ratos sugerem que o efeito do exercício, na preservação da MM, pode ser dependente do grau da restrição alimentar (BALLOR, TOMMERUP & SMITH, 1990; KATZEFF, OJAMAA & KLEIN, 1995). Por exemplo, o exercício físico aliado à restrição alimentar igual ou maior do que 25 % não evita a perda de MM ocasionada pelo uso desta mesma restrição de forma isolada (PEDROSA *et al.*, 2004b). Em estudo mais recente, realizado por Layman *et al.* (2005), foi observado que indivíduos que combinaram um programa de exercício físico (exercício aeróbio + exercício de resistência) com dieta para redução de peso, rica em carboidratos, apresentaram redução significativa da MM (-5,4 %; $p = < 0,001$), após 4 meses de tratamento. Foi observado, também, que indivíduos que combinaram o mesmo programa com dieta para redução de peso, rica em proteínas, não apresentaram redução significativa da MM (-0,9 %; $p = 0,39$), após mesmo período de tratamento. Portanto, estes resultados sugerem que o tipo de combinação entre dieta e exercício físico pode ser o fator determinante na preservação da MM durante o processo de redução de peso corporal. Sugerem, também, que outras combinações podem ser investigadas.

Uma hipótese criada por Garrow & Summerbell (1995), em relação à preservação da MM pela combinação do exercício físico com a restrição calórica, propõe que o efeito ocorre, em parte, pela preservação do seu componente fluídico formado por água e glicogênio, uma vez que indivíduos exercitados apresentam aumento das reservas de glicogênio muscular e da água intracelular associada a este composto (relação glicogênio:água = 1 g:2-4 g). Um estudo realizado em nosso laboratório avaliou o efeito da combinação da restrição alimentar, em dois níveis (25 e 50 %), com o exercício físico na composição química da MM de ratos (PEDROSA *et al.*, 2004a). Neste estudo foi verificado que os grupos submetidos à restrição alimentar aliada ao exercício físico apresentaram maior concentração de glicogênio, e menor de proteína, no músculo gastrocnêmio, e maior percentual de umidade na carcaça, em relação aos respectivos grupos que foram apenas submetidos à restrição alimentar. Deste modo, pode ser sugerido, com base nos resultados desse último estudo, que parte da preservação da MM, decorrente da combinação dessas duas estratégias, pode ser proporcionada pelo aumento do componente não-protéico (glicogênio:água) que constitui as células musculares.

Outro aspecto importante, relacionado à preservação da MM durante o processo de redução de peso corporal, foi discutido em um estudo realizado por Roubenoff & Kehayias (1991). Estes autores propuseram que as estratégias intervencionistas, utilizadas para preservar a massa magra, poderiam também ser importantes na preservação da capacidade funcional deste compartimento corporal. Com este objetivo, algumas pesquisas avaliaram o efeito da restrição calórica aliada ao exercício físico sobre componentes específicos da MM, ou melhor, da TM. Estes estudos investigaram os efeitos dessas estratégias na estrutura e função do sistema imune (FILTEAU *et al.*, 1992; NIEMAN *et al.*, 1998; SCANGA *et al.*, 1998). Nieman *et al.* (1998) investigaram o efeito da restrição calórica moderada (1.200-1.300 kcal) e/ou do exercício físico (cinco sessões de 45 minutos de caminhada/semana) em alguns parâmetros relacionados com a imunidade inata e adquirida de 91 mulheres obesas, durante período de 12 semanas. Esses autores concluíram que a perda de peso moderada, induzida tanto pela restrição calórica isolada, quanto pela sua combinação com o exercício físico,

resultou em diminuição da proliferação de linfócitos ativados por antígeno, porém nenhum dos outros parâmetros imunológicos sofreu alterações significativas. Em outro estudo, realizado por Scanga *et al.* (1998), foi avaliado o efeito da restrição calórica de 900 kcal/dia e de um programa que combinava esta restrição com exercícios físicos de baixa à moderada intensidade (exercício aeróbio + exercício de resistência) na atividade de células NK em 25 mulheres obesas. Após o período de 8 semanas de tratamento foi constatado que a atividade de células NK diminuiu no grupo que utilizou a restrição calórica como única estratégia para a redução de peso. Foi verificado, também, que o efeito deletério desta estratégia na atividade de células NK foi reduzido, no grupo que combinou a mesma restrição calórica com o programa de exercícios físicos. Apesar desses autores considerarem prudente a incorporação do exercício físico nos programas para redução de peso corporal, visando a redução da imunossupressão provocada pela restrição calórica, uma conclusão a respeito não pode ser tomada devido aos resultados controversos. Assim, outros estudos são necessários para determinar a melhor combinação entre estratégias de emagrecimento que resultem na preservação das estruturas e funções relacionadas ao sistema imune.

Dietas ricas em proteínas

A restrição calórica tipicamente recomendada para redução de peso caracteriza-se por ter grande quantidade de carboidratos, limitada quantidade de gordura e moderada quantidade de proteína, o que significa, em termos percentuais: ~15 % de proteína, ~55 % de carboidrato e 30 % ou menos de gordura (EISENSTEIN *et al.*, 2002). Todavia, a proporção ideal dos macronutrientes em dietas de emagrecimento é atualmente bastante discutida. Existem evidências de que as dietas com maior proporção de proteína e menor de carboidrato promovem maior perda de peso, maior redução de gordura corporal e menor perda de MM, quando comparadas às dietas convencionais (FARNSWORTH *et al.*, 2003; LAYMAN *et al.*, 2003; BUCHHOLZ & SCHOELLER, 2004; HALTON & HU, 2004; LAYMAN *et al.*, 2005). Nestas

dietas, a proporção de proteína recomendada pode variar entre 22 % a 45 % do valor calórico total (EISENSTEIN *et al.*, 2002; HALTON & HU, 2004).

A maior redução de peso ocasionada com dieta rica em proteína foi verificada em um estudo realizado com 65 indivíduos obesos, no qual os indivíduos foram divididos em dois grupos: o primeiro submetido à dieta com maior proporção de proteína (25 % do valor calórico) e o segundo submetido à dieta convencional (12 % do valor calórico) (SKOV *et al.*, 1999). Os dois grupos também foram orientados a consumir uma quantidade de gordura menor que 30 % do valor calórico total e a consumir alimentos de forma *ad libitum*, durante período de seis meses. Após este período, foi constatado que o grupo de indivíduos submetidos à dieta com 25 % de proteína teve perda de peso 4,3 % maior do que o outro grupo. Buchholz & Schoeller (2004) verificaram que, em média, a perda de peso promovida pela dieta com maior proporção de proteína ou menor de carboidrato é de 2,5 kg maior, após período de 12 meses, quando comparada a redução de peso ocasionada por dieta com maior proporção de carboidratos e de mesmo valor calórico. Foi verificado, também, que após 24 meses, a perda de peso promovida pela dieta com maior proporção de proteína ou menor de carboidratos é, em média, 4,0 kg maior. Estas médias foram obtidas de pesquisas que avaliaram os efeitos destas dietas, tanto em indivíduos com consumo *ad libitum*, quanto em indivíduos submetidos à restrição calórica. Cabe ressaltar que ainda há controvérsia em relação aos efeitos das dietas ricas em proteína sobre a redução de peso corporal, pois tal efeito não tem sido verificado em todos os estudos que o avaliam. Este fato pode ser observado no trabalho realizado por Halton & Hu (2004), que identificaram 15 estudos que avaliaram o efeito desta dieta sobre a perda de peso. Estes autores constataram que, dos 15 trabalhos incluídos na revisão, sete encontraram redução de peso significativa e oito não encontraram o mesmo efeito.

Os efeitos favoráveis na composição corporal das dietas com maior proporção de proteína e menor de carboidrato foram observados em alguns estudos que adotaram a restrição calórica como forma de tratamento para redução de peso (FARNSWORTH *et al.*, 2003; LAYMAN *et al.*, 2005). Em um trabalho, que verificou o efeito de dieta com maior proporção de proteína em 57

indivíduos (14 homens e 43 mulheres) submetidos a 12 semanas de restrição calórica, seguidas de mais quatro semanas de dieta normocalórica, foi observada maior preservação de MM, apenas nas mulheres submetidas à dieta com 27 % de proteína em relação àquelas submetidas à dieta com 16 % deste macronutriente (FARNSWORTH *et al.*, 2003). Neste estudo, também foi observado que a redução de gordura corporal não diferiu entre os indivíduos submetidos às duas dietas. Já Layman *et al.* (2005) verificaram que mulheres submetidas a 16 semanas de restrição calórica com dieta com maior quantidade de proteína (1,6 g/kg/dia) perderam mais gordura corporal, quando comparadas a mulheres submetidas à mesma restrição calórica, porém, com dieta com menor quantidade de proteína (0,8 g/kg/dia). Layman *et al.* (2005) observaram, também, que a perda de MM foi igual para ambos os grupos de mulheres. Pode-se notar, pelo exposto anteriormente, que existem controvérsias em relação aos efeitos, na composição corporal, das dietas com maior proporção de proteína e menor de carboidrato, fato que foi relatado, também, no estudo de revisão realizado por Halton & Hu (2004). No trabalho destes autores, são descritos 10 trabalhos que avaliaram os efeitos destas dietas sobre a composição corporal; destes, apenas três encontraram efeitos positivos e significativos. Essa diferença em relação aos resultados encontrados pode ser consequência dos distintos protocolos utilizados nestes estudos, dos quais, merecem destaque: as diferentes proporções e quantidades de proteína; as diferentes fontes de proteína; a duração do tratamento; e o grau da restrição calórica. Dessa maneira, mais pesquisas são necessárias para definir a melhor proporção, quantidade e fonte de proteína a ser utilizada em dietas para redução de peso, bem como o tempo ideal de tratamento e o grau de restrição calórica que aperfeiçoe o efeito da maior proporção ou quantidade deste macronutriente na dieta.

Dietas ricas em proteínas: função renal e o estado nutricional relativo ao cálcio

Embora existam evidências em relação aos efeitos favoráveis da dieta com maior proporção de proteína na redução de peso e na composição corporal, existem poucas conclusões a respeito dos possíveis efeitos colaterais dessa maior ingestão protéica em indivíduos saudáveis (EISENSTEIN *et al.*, 2002, JOHNSTON, TJONN & SWAN, 2004, LACROIX *et al.*, 2004). Entre os possíveis efeitos colaterais da maior ingestão protéica, os mais investigados são em relação à função renal e ao estado nutricional relativo ao cálcio. Eisenstein *et al.* (2002), concluíram que existem poucas evidências do efeito deletério da dieta com maior proporção ou quantidade de proteína na função renal, mas sugerem precaução em relação ao uso destas dietas em indivíduos com evidências de doença renal, diabéticos e com histórico de nefrolitíase. Estudos mais recentes (LAYMAN *et al.*, 2003; JOHNSTON, TJONN & SWAN, 2004), que avaliaram o efeito da maior ingestão protéica na função renal de indivíduos em curto prazo (10 e 6 semanas, respectivamente), não encontraram diferença nesta função, quando os resultados foram comparados aos obtidos de indivíduos com menor ingestão protéica. Lacroix *et al.* (2004) não observaram dano na função renal de ratos que consumiram dieta com 50 % de proteína em longo prazo (6 meses). No entanto, estes autores enfatizam que os resultados encontrados não podem ser extrapolados para os humanos, pelo fato dos roedores terem maior capacidade de concentrar uréia. Assim, mais pesquisas são necessárias para avaliar o efeito, principalmente em longo prazo, da dieta com maior proporção ou quantidade de proteína na função renal de indivíduos saudáveis durante período de perda de peso.

Outro efeito colateral que pode estar associado com a maior ingestão protéica por indivíduos saudáveis é o aumento da excreção urinária de cálcio. A hipercalcúria ocasionada pela maior ingestão de proteína é uma consequência do aumento da produção de ácido que ocorre durante a oxidação de aminoácidos sulfurados, que são encontrados principalmente em proteínas de origem animal. O aumento da produção de ácido está relacionado com a maior taxa de filtração glomerular e com a diminuição da reabsorção

tubular de cálcio, eventos que podem resultar no balanço negativo do cálcio e na reabsorção óssea (EISENSTEIN *et al.*, 2002). No entanto, ressalta-se que os resultados dos estudos, que avaliaram os efeitos da maior ingestão protéica em parâmetros indicativos do estado nutricional relativo ao cálcio e da renovação óssea, são controversos. Eisenstein *et al.* (2002) revisaram estudos que encontraram associação entre a maior ingestão de proteína, em curto prazo, e o aumento da excreção urinária de cálcio, balanço negativo do cálcio e reabsorção óssea. Por outro lado, estudos recentes não encontraram efeitos deletérios da dieta com maior proporção ou quantidade de proteína no estado nutricional relativo ao cálcio e em parâmetros indicativos da renovação óssea de indivíduos saudáveis, que foram submetidos à redução de peso durante período de 6 e 12 semanas (JOHNSTON, TJONN & SWAN, 2004, NOAKES, *et al.*, 2005). Adicionalmente, relata-se que estudos que avaliaram os efeitos, em longo prazo, da maior ingestão protéica na renovação óssea apresentaram resultados conflitantes (EISENSTEIN *et al.*, 2002). Assim, o nível superior para ingestão de proteína que esteja relacionado com o menor efeito deletério no metabolismo ósseo precisa ainda ser definido.

Dietas ricas em proteínas: mecanismos envolvidos

O mecanismo pelo qual a dieta com maior proporção de proteína aumenta a redução de peso em relação à dieta convencional ainda não está esclarecido. Uma das hipóteses está relacionada ao maior efeito da proteína na saciedade, quando comparado ao do carboidrato. Sabe-se que a saciedade é regulada pela complexa interação de mecanismos fisiológicos, psicológicos e comportamentais (HALTON & HU, 2004). No estudo realizado por Skov *et al.* (1999), citado anteriormente, a maior redução de peso promovida pela dieta rica em proteína foi atribuída ao maior efeito deste nutriente na saciedade, uma vez que a ingestão calórica dos indivíduos que realizaram esta dieta foi 17 % menor, quando comparada à dos indivíduos com dieta com menos proteína. Resultado semelhante foi encontrado em estudo que submeteu dois grupos de ratos a seis meses de consumo *ad libitum* de ração com 14 ou 50 % de proteína

(LACROIX *et al.*, 2004). Neste estudo, foi observado que o grupo de animais que ingeriu a ração com mais proteína teve consumo de ração 18 % menor, após os seis meses de experimento. Todavia, como observado por Buchholz & Schoeller (2004), o efeito da proteína na saciedade não pode ser considerado como explicativo, em alguns estudos, para o aumento da perda de peso corporal ocasionada pela dieta com maior proporção deste macronutriente. Isto se deve ao fato de que nestes estudos a ingestão calórica foi igual para os indivíduos que realizaram as dietas com maior ou menor proporção de proteína.

Outro mecanismo proposto para explicar o efeito da dieta rica em proteína na redução de peso é o relacionado ao maior efeito desta dieta na termogênese, mais especificamente no efeito térmico dos alimentos (ETA) (EISENSTEIN *et al.*, 2002; BUCHHOLZ & SCHOELLER, 2004; HALTON & HU, 2004). O ETA consiste no aumento do gasto energético observado após a ingestão de uma refeição. Este aumento no gasto energético pós-prandial é necessário para a realização dos processos de digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes ingeridos, podendo representar, aproximadamente, de 5 a 10% do gasto energético diário de um indivíduo (POEHLMAN & HORTON, 1989). O ETA produzido pela proteína pode ser de 20 a 35 % do conteúdo calórico ingerido, enquanto que o do carboidrato fica entre 5 e 15 % e o da gordura fica entre 0 e 5 % (WESTERTERP, WILSON & ROLLAND, 1999; HALTON & HU, 2004). A maior influência da proteína no ETA se deve ao fato de que este macronutriente não pode ser armazenado pelo organismo, tal como acontece com os carboidratos e as gorduras, precisando ser metabolizado imediatamente após sua ingestão. Durante o metabolismo das proteínas a energia pode ser utilizada, principalmente, nas reações de síntese protéica, síntese de uréia e neoglicogênese (HALTON & HU, 2004). A maior influência da proteína no ETA foi observada no estudo realizado por Robinson *et al.* (1990). Neste estudo foi observado que, após uma refeição rica em carboidratos, 36 % do ETA produzido foi destinado à síntese protéica, e que, após uma refeição rica em proteína, este valor foi de 68 %. Desta forma, o estudo sugere que a maior parte do ETA produzido pela ingestão de refeição rica em proteína pode ser destinada para a síntese protéica.

As evidências não deixam dúvidas quanto a maior influência da dieta com maior proporção ou quantidade de proteína no ETA, quando comparada à influência da dieta convencional com mesmo valor calórico. Mas existem dúvidas em relação à repercussão desta influência ou de sua magnitude na redução de peso corporal. Acredita-se que o maior ETA provocado pela dieta com maior proporção de proteína seja responsável por apenas um terço do excedente de peso corporal perdido por indivíduos em uso desta dieta. Ou seja, dos 2,5 kg de peso corporal perdidos a mais por esses indivíduos, após período de 12 meses, apenas 0,8 kg são atribuídos ao maior ETA desta dieta (BUCHHOLZ & SCHOELLER, 2004). Desta maneira, mais estudos são necessários para o total esclarecimento dos mecanismos responsáveis pelos efeitos da dieta rica em proteína na redução de peso corporal.

Da mesma forma, os mecanismos relacionados aos efeitos da dieta rica em proteína na composição corporal ainda não são conhecidos. Todavia, algumas hipóteses foram propostas para explicar tal efeito, entre essas: 1) manutenção das concentrações dos hormônios tireoidianos T_3 e T_4 durante a redução de peso; 2) menor resposta insulinêmica ocasionada pela menor quantidade de carboidrato na dieta (perfil endócrino associado com maior estímulo à lipólise) e 3) preservação da proteína corporal durante o emagrecimento (LAYMAN *et al.*, 2003; LAYMAN *et al.*, 2005). Assim, o conjunto desses efeitos da dieta com maior proporção de proteína resultaria no aumento da oxidação de gordura e na preservação da MM durante a redução de peso corporal. Também é sugerido que parte dos benefícios promovidos pela dieta com maior proporção de proteína na composição corporal pode ser atribuída à maior ingestão dos ACR (leucina, isoleucina e valina), que são nutrientes essenciais pelo fato de não serem sintetizados no organismo. (LAYMAN *et al.*, 2003; LAYMAN *et al.*, 2006; TOM & NAIR, 2006). No estudo realizado por Mourier *et al.* (1997), que avaliaram o efeito da suplementação crônica dos ACR em lutadores submetidos a 19 dias de restrição calórica, foi observado que a restrição calórica aliada à suplementação com ACR foi mais efetiva na redução do peso e da gordura corporal, quando comparada à restrição calórica isolada. Não foram, porém, observadas mudanças significativas na MM desses atletas. Desta forma, segundo esta hipótese, a

maior oferta de proteína não seria apenas para aumentar a disponibilidade de substratos (aminoácidos) para a síntese protéica, mas, também, para estimular processos anabólicos que são observados a partir da maior ingestão dos ACR, particularmente do aminoácido leucina.

Existem evidências *in vitro* e *in vivo* de que a leucina é capaz de estimular a síntese protéica, por ativar, principalmente, a inicialização do processo de tradução protéica (PATTI *et al.*, 1998; ANTHONY *et al.*, 2001; LYNCH *et al.*, 2002). A inicialização da tradução protéica é uma das principais etapas que regulam a síntese de proteínas, pois determina a eficiência com que o aparato ribossomal é utilizado na tradução do RNA mensageiro (MILLWARD & WATERLOW, 1978). Além disso, a leucina aumenta a quantidade de proteínas ribossomais e fatores de elongação, resultando em maior capacidade de síntese protéica celular (PATTI *et al.*, 1998; ANTHONY *et al.*, 2001). Todavia, a maior parte desses estudos avaliou apenas os efeitos agudos da administração de leucina. O efeito da suplementação crônica foi verificado em um estudo realizado com ratos suplementados com leucina durante 12 dias, no qual se observou aumento na taxa de síntese protéica no tecido adiposo, no músculo gastrocnêmio e no fígado (LYNCH *et al.*, 2002). Outro estudo, que avaliou o efeito da suplementação crônica com leucina em ratos, verificou maior retenção de nitrogênio na carcaça desses animais, após fase de recuperação nutricional de 60 dias com dieta rica em leucina, a qual foi antecedida de outra fase de 60 dias de desnutrição protéica (VENTRUCCI *et al.*, 2004). Dessa maneira, existem algumas evidências de que a suplementação crônica com leucina pode ter efeito benéfico no estado protéico nutricional, principalmente em períodos de recuperação nutricional.

Diante disso, o presente estudo testou a hipótese de que a suplementação crônica com leucina pode alterar favoravelmente a composição corporal e o estado nutricional protéico em ratos adultos submetidos à restrição alimentar de 50% e a período de recuperação nutricional.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O presente estudo foi realizado com 88 ratos Wistar machos e adultos, fornecidos pelo Biotério de Produção e Experimentação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente climatizado a 22 ± 2 °C, com umidade relativa do ar de 55 ± 10 % e com ciclo biológico de 12 h claro/12 h escuro. Os animais tiveram livre acesso à água durante o experimento. Todos os procedimentos com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, segundo os princípios adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Anexo 1).

Desenho experimental do estudo I

Inicialmente, 28 animais foram alimentados *ad libitum* com ração AIN93-M (REEVES, 1997) durante três semanas, visando a adaptação desses às novas condições ambientais e para a determinação do consumo de ração. A média dos valores do consumo diário de ração obtida na última semana foi utilizada para determinar a quantidade de ração que seria oferecida diariamente na fase de restrição alimentar (RA). No final da última semana de adaptação, os animais foram pesados ($310,4 \pm 11,1$ g) e distribuídos em dois grupos: CON (ração AIN93-M) ($n = 15$) e LEU (ração suplementada com 0,59 % de L-leucina) ($n = 13$). Posteriormente à fase de adaptação, os animais dos dois grupos experimentais foram submetidos à RA de 50 %, com suas respectivas rações, durante 6 semanas (Figura 2). Durante essa fase experimental o consumo de ração dos animais foi verificado diariamente e o peso corporal mensurado semanalmente em balança com precisão de 0,1 g (BG 4000, Gehaka Ind. e Com. Eletro-Eletrônica Ltda., São Paulo). Após o fim deste período, os animais foram sacrificados.

Figura 2. Desenho experimental do estudo I.

Desenho experimental do estudo II

Inicialmente, 60 animais foram alimentados *ad libitum* com ração AIN93-M (REEVES, 1997) durante duas semanas, visando a adaptação desses às novas condições ambientais e para a determinação do consumo de ração. A média dos valores do consumo diário de ração obtida na última semana de adaptação foi utilizada para determinar a quantidade de ração que seria oferecida diariamente na fase de RA de 50 %. No final da última semana de adaptação, os animais foram pesados (314 ± 15 g) e distribuídos em dois grupos: CON (ração AIN93-M) ($n = 30$) e LEU (ração suplementada com 0,59 % de L-leucina) ($n = 30$). Então, os animais dos dois grupos foram submetidos à RA de 50 % durante uma semana. No final do período de RA, 15 animais de cada grupo foram sacrificados; o restante dos animais ($n = 15$ por grupo) foi submetido a duas semanas de recuperação nutricional (RN) com suas respectivas rações (Figura 3). A RN foi caracterizada pelo consumo das rações de forma *ad libitum*. Durante essa fase experimental o consumo de ração dos animais foi verificado diariamente e o peso corporal mensurado semanalmente em balança com precisão de 0,1 g (BG 4000, Gehaka Ind. e Com. Eletro-Eletrônica Ltda., São Paulo). Após o fim deste período, os animais foram sacrificados.

Dieta

A dieta em pó foi preparada de acordo com as recomendações do *American Institute of Nutrition* – 1993 para ratos adultos (AIN-93M) (REEVES, 1997). A dieta oferecida apresentava, em relação à sua composição, cerca de 12 % de proteína (caseína + L-cistina), 72 % de carboidratos (amido + sacarose) e 4 % de lipídios (óleo de soja). Em relação ao valor calórico total, apresentava 13,3 % de proteína, 77,1 % de carboidratos e 9,54 % de lipídeos. As quantidades de minerais e vitaminas atendiam às recomendações específicas para ratos adultos, quando a ração era consumida de forma *ad libitum*. A composição detalhada da dieta está descrita no Anexo 2. O conteúdo de proteína da ração foi confirmado por meio da análise do conteúdo total de nitrogênio pelo método de Kjeldahl (CECCHI, 1999). A quantidade de L-leucina adicionada na ração oferecida aos grupos suplementados foi equivalente a 50 % do valor presente na ração oferecida aos grupos controles. Para isso, foram substituídos 5,91 g de amido por L-leucina purificada para cada quilograma de ração preparada (Anexo 2). O valor para suplementação com L-leucina foi determinado a partir do aminograma realizado na caseína que foi utilizada na preparação das rações (Anexo 3).

Figura 3. Desenho experimental do estudo II

Sacrifício dos animais e coleta das amostras

Após jejum de 10 a 14 horas, os animais foram sacrificados por decapitação, sem anestesia, ao final de cada etapa. O sangue do tronco foi coletado e centrifugado por 15 minutos, 3.000 rpm, à temperatura de 25 °C (BR 4i, Societe Jouan, Saint Herblain, France). O soro e o plasma, obtidos após processo de centrifugação, foram coletados e congelados a - 80 °C (Sanyo Ultra Low, Sanyo Electric Co. Ltda, Gunma, Japan). O trato gastrointestinal foi totalmente esvaziado e lavado com soro fisiológico. Fígado, coração, estômago, intestino, baço, rins e os músculos gastrocnêmios foram retirados e pesados em balança semi-analítica (AL 500, Marte®, São Paulo). Depois de pesados, o fígado e os músculos gastrocnêmios foram mantidos em nitrogênio líquido e, posteriormente, acondicionados em freezer (-20 °C). Coração, estômago, intestino, baço e rins foram devolvidos ao restante da carcaça para a subsequente determinação da composição corporal.

Parâmetros analisados

A - Consumo de ração

B - Peso corporal e massa de tecidos

C - Composição corporal

D - Parâmetros teciduais

Concentrações de proteína, RNA e DNA no fígado

Concentrações de proteína, RNA e DNA no músculo gastrocnêmio

E - Parâmetros séricos e plasmáticos

Concentração das proteínas totais no soro

Concentração de albumina no soro

Concentração de IGF-1 no soro

Concentração de corticosterona no soro (Experimento II)

Concentração de leptina no soro (Experimento I)

Concentração de glicose no plasma (Experimento II)

Concentração de uréia no plasma (Experimento II)

Descrição das metodologias

Composição corporal

A composição corporal dos animais (gordura, proteína, umidade e cinzas) foi determinada a partir da análise química da carcaça (CORTRIGHT *et al.*, 1997; COMIZIO *et al.*, 1998). A carcaça consistiu de todo o corpo do animal, com exceção da amostra de sangue (aproximadamente entre 3 e 5 mL), do fígado e dos músculos gastrocnêmios, removidos para as análises teciduais.

Conteúdo e percentual de umidade na carcaça

A umidade da carcaça dos animais foi determinada por meio da técnica de secagem em estufa, que baseia-se na remoção da água por aquecimento (CECCHI, 1999). Inicialmente, o tórax e o abdômen dos animais foram abertos ao máximo, para permitir melhor secagem. Depois, as carcaças foram acondicionadas individualmente em embalagens de papel alumínio, pesadas em balança com precisão de 0,1 g (BG 4001, Gehaka Ind. e Com. Eletro-Eletrônica Ltda., São Paulo) e colocadas em estufa ventilada (Mod. 171, Soc. Fabbe Ltda, São Paulo) à temperatura de 70 °C, durante 7 dias. Após esse período, a carcaça foi novamente pesada e a umidade, em termos absoluto, obtida pela diferença entre o peso da carcaça úmida (g) e o peso da carcaça seca (g). O percentual de umidade da carcaça dos animais foi calculado pela fórmula a seguir:

$$\% \text{ umidade da carcaça} = [\text{umidade absoluta (g)}/\text{peso da carcaça (g)}] \times 100$$

Conteúdo e percentual de gordura na carcaça

Toda a carcaça seca foi picada, embrulhada em gaze e envolvida por papel filtro (Whatman, n. 54) para a determinação da gordura, que foi realizada pela técnica de extração com solvente, utilizando-se o aparelho Soxhlet (Infratec mult TE 188, Marconi, São Paulo) e o solvente éter etílico (LabSynth, p.a.) (CECCHI, 1999). Esta técnica baseia-se: 1^o) na extração da gordura da amostra com solvente por dois dias (~10h/dia), 2^o) na eliminação do solvente por evaporação e 3^o) na determinação da gordura extraída por pesagem. O percentual de gordura da carcaça dos animais foi calculado pela fórmula a seguir:

$$\% \text{ gordura da carcaça} = [\text{gordura absoluta (g)}/\text{peso da carcaça (g)}] \times 100$$

Conteúdo e percentual de proteína na carcaça

O restante da carcaça, sem umidade e gordura, foi totalmente moído (moinho Ika M20 grinder, Labortechnik, Wasserburg, Germany). A carcaça moída foi peneirada para remoção dos pêlos. Esse processo resultou em um pó bastante uniforme, que foi utilizado (100 mg) para a determinação da proteína da carcaça, por meio do método de Kjeldahl (CECCHI, 1999). Tal método baseia-se na determinação do percentual de nitrogênio da amostra, o qual pode ser convertido em percentual de proteína, quando multiplicado pelo fator arbitrário de 6,25. Este fator representa a proporção de nitrogênio presente na proteína em questão, que é em torno de 16 %. O princípio do método consiste em: 1^o) na digestão da amostra com ácido sulfúrico (LabSynth, p.a.). Durante esse processo, o carbono e o hidrogênio da amostra são oxidados e o nitrogênio da proteína é reduzido em sulfato de amônia; 2^o) na destilação do sulfato de amônia. Neste processo, adiciona-se NaOH (LabSynth, p.a.) concentrado na amostra, que é aquecida para liberação da

amônia dentro de um volume conhecido de solução de ácido bórico (LabSynth, p.a.), formando borato de amônia; 3º) na titulação do borato de amônia com solução de ácido clorídrico (LabSynth, p.a.). O percentual de nitrogênio da amostra foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\% N = \{[(\text{mL HCL amostra} - \text{mL HCL branco}) \times N \times \text{FC} \times 14,007] / \text{mg da amostra}\} \times 100$$

% N = percentual de nitrogênio da amostra;
mL HCL = volume gasto de ácido clorídrico;
N = normalidade do HCl;
FC = fator de correção do ácido;
14,007 = peso equivalente do nitrogênio;
mg da amostra = massa da amostra analisada.

O percentual de proteína da amostra foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Proteína da amostra} = \% N \times 6,25$$

% Proteína = percentual de proteína da amostra;
% N = percentual de nitrogênio da amostra;
6,25 = fator arbitrário indicativo do conteúdo de nitrogênio da amostra protéica em questão (aproximadamente 16% do total).

O conteúdo de proteína na carcaça foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Proteína na carcaça (g)} = [\text{carcaça seca (g)} - \text{lipídeo total (g)}] \times (\% \text{ Proteína da amostra}/100)$$

O percentual de proteína da carcaça foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ de proteína da carcaça} = [\text{proteína absoluta (g)}/\text{carcaça úmida (g)}] \times 100$$

Conteúdo e percentual de cinza na carcaça

Para a determinação da cinza, 2 g do pó, resultante do processo descrito no tópico anterior, foram colocados em um cadinho de porcelana, que foi previamente incinerado, esfriado e pesado. Depois o cadinho contendo o pó foi incinerado em uma mufla (Fornitec Ind. e Com. LTDA, São Paulo) por 12 h a 550 °C, colocado em um dessecador para esfriar e pesado quando atingiu a temperatura ambiente. A diferença entre o peso do cadinho com o pó e vazio é a quantidade de cinza da amostra. Este método baseia-se na obtenção da cinza, ou resíduo inorgânico, após incineração da matéria orgânica de uma amostra (CECCHI, 1999). O conteúdo de cinza na carcaça foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Cinza na carcaça (g)} = [\text{carcaça seca (g)} \times \text{cinza na amostra (g)}] / \text{peso da amostra}$$

O resultado referente ao percentual de cinza da carcaça foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de cinza da carcaça} = [\text{cinza na carcaça (g)} \times 100] / \text{carcaça úmida (g)}$$

Quantidade e percentual da MM na carcaça

A quantidade de MM foi calculada subtraindo-se o valor absoluto de gordura da massa total da carcaça. O percentual de MM da carcaça foi calculado subtraindo-se o percentual de gordura de 100 %.

Parâmetros teciduais

Extração de proteína, RNA e DNA do fígado e do músculo gastrocnêmio

Uma amostra do fígado e todo o músculo gastrocnêmio, da pata direita de cada animal, foram colocados em nitrogênio líquido, pulverizados em placas de alumínio, pesados (~300 mg) e imediatamente homogeneizados com 6 mL de ácido tricloroacético (Merck Chemical®, p.a.) 10%, gelado, sendo, posteriormente, centrifugados a 3.000 rpm por 15 minutos, à temperatura de 4 °C. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado e o precipitado foi ressuspensão com 10 mL de ácido perclórico (PCA, Merck Chemical®, p.a.) 2%, gelado, e centrifugado a 3.000 rpm por 15 minutos, à temperatura de 4 °C. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado e o precipitado foi, então, ressuspensão com 10 mL de NaOH (LabSynth, p.a.) 0,3N e mantido em banho aquecido (Haake SWB 20, Gebrüder Haake GmbH, Karlsruhe, Germany) por 1 hora, à temperatura de 37 °C. Durante esse período foi utilizado um bastão de vidro a fim de que qualquer coágulo formado nos tubos fosse dissolvido. Em seguida, cerca de 5 mL foram retirados e congelados a -20 °C para posterior determinação da concentração de proteína da amostra.

O restante da solução foi resfriado em gelo durante 10 minutos. Posteriormente, foi acrescentado 2 mL de PCA (20%) gelado, homogeneizado com bastão de vidro e mantido em gelo por 10 minutos. Em seguida, foi centrifugado por 15 minutos, 3.000 rpm, à temperatura de 4 °C. Uma parte do sobrenadante (5 mL) foi armazenada a -20 °C para posterior determinação da concentração de RNA da amostra, enquanto o restante do sobrenadante foi desprezado. Em seguida, o precipitado foi ressuspensão com 10 mL de PCA (2%) gelado e centrifugado por 15 minutos, 3.000 rpm, à temperatura de 4 °C. Após esse procedimento, o sobrenadante foi desprezado e o precipitado foi ressuspensão com 10 mL de PCA (8%) e mantido em banho aquecido por 45 minutos, à temperatura de 70 °C e, posteriormente, centrifugado por 15 minutos, 3.000 rpm, à temperatura de 4 °C. Uma alíquota do sobrenadante (5 mL) foi armazenada a -20 °C para a determinação da concentração de DNA da amostra.

Concentração da proteína muscular e hepática

A concentração de proteína hepática e muscular (gastrocnêmio) foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Lowry *et al.* (1951). Seu princípio consiste na hidrólise alcalina das proteínas da amostra e na formação de um complexo de cor azul, a partir da reação com o reagente de Folin-Ciocalteu (Merck Chemical®, p.a.). A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de proteína da amostra, que foi medida em espectrofotômetro UV (Shimadzu mini 1240, Shimadzu Corporation, Kioto, Japan), adotando um comprimento de onda de 660 nm. A concentração de proteína da amostra foi calculada a partir de uma curva-padrão de albumina de soro bovino (A-8022, Sigma Chemical co., St. Louis, MO, USA).

Concentração do RNA muscular e hepático

As concentrações de RNA no fígado e no músculo gastrocnêmio foram determinadas pelo método colorimétrico descrito por Munro & Fleck (1966). Neste método, lê-se em espectrofotômetro UV a 260 nm, utilizando cubetas de quartz, o sobrenadante obtido após processo de extração de proteína da amostra, e considera-se que cada grau de extinção, a 260 nm, corresponde a 32 mg de RNA por mL de solução analisada.

Concentração do DNA muscular e hepático

As concentrações de DNA no fígado e no músculo gastrocnêmio foram determinadas pelo método colorimétrico descrito por Gendimenico, Bouquin & Tramposch (1988). O princípio do método consiste na reação do DNA com a difenilamina (Merck Chemical®, p.a.), produzindo coloração azul. A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de DNA da amostra, que foi medida em espectrofotômetro UV, adotando um comprimento de onda de 600 nm.

Parâmetros séricos e plasmáticos

Concentração de proteínas totais no soro

A concentração de proteínas totais presente no soro dos animais foi determinada pelo método colorimétrico do reativo de biureto (CANNON, OLITZKY & INKPEN, 1964). O princípio do método consiste na reação das ligações peptídicas das proteínas com o cobre (Cu^{2+}) em meio alcalino, dando origem a um complexo de cor violeta, cuja intensidade de coloração é proporcional à concentração de proteína na amostra. As absorbâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro UV a 545 nm e as concentrações foram obtidas contra curva de calibração, realizada com um padrão de proteínas totais (LabTest, Cat. 99, Minas Gerais).

Concentração da albumina sérica

A concentração de albumina presente no soro dos animais foi determinada pelo método colorimétrico de verde de bromocresol (DOUMAS, WATSON & BIGGS, 1971). O princípio do método consiste na reação da albumina presente na amostra com o verde de bromocresol (Merck Chemical®, p.a.) em meio ácido (pH 4,0), formando um complexo de cor verde, cuja intensidade de coloração é proporcional à concentração de albumina na amostra. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro UV a 628 nm e as concentrações determinadas contra curva linear de calibração de albumina de soro bovino (A-8022, Sigma Chemical co., St. Louis, MO, USA), nas concentrações de 2,3,4,5 e 6g/dL. O valor referente à concentração de albumina no soro de cada animal foi subtraído do respectivo valor de proteínas totais para a obtenção da concentração de globulinas no soro desses animais.

Concentração de IGF-1 no soro

Para determinar a concentração do IGF-1 presente no soro dos animais foi utilizado o “kit” comercial Diagnostic Systems Laboratories, Inc., de radioimunoensaio de competição DSL-2900 Fator de Crescimento 1 “Insuline Like” (RAT IGF-I RIA KIT), que é específico para medida quantitativa de IGF-1 em rato. O princípio do método consiste na competição entre o antígeno radioativo e não radioativo por um número limitado de sítios de anticorpos de ligação (princípio básico de radioimunoensaio). Após determinado tempo de incubação, quando ocorre competição por parte dos antígenos marcados (I - 125) e não marcados (amostra) pelos sítios de anticorpos de ligação, precipitam-se os complexos antígenos-anticorpos e lê-se a radioatividade emitida em contador gama (Cobra Alto Gama, Packard Instrument, Illinois, USA). Desta maneira, a quantidade de IGF-1 marcado é inversamente proporcional à concentração de IGF-1 não marcado, presente na amostra. As concentrações de IGF-1 presente no soro dos animais foram calculadas no *software* GraphPad Prism versão 3.0 (GraphPad Software, Inc).

Concentração de corticosterona no soro

Para determinar a concentração de corticosterona presente no soro dos animais foi utilizado o “kit” comercial Diagnostic Systems Laboratories, Inc., de radioimunoensaio de competição DSL-80100 (RAT CORTICOSTERONE RIA KIT), que é específico para medida quantitativa de corticosterona em rato. O método segue o princípio básico de radioimunoensaio, descrito no tópico Concentração de IGF-1 no soro. As concentrações de corticosterona presente no soro dos animais foram calculadas no *software* GraphPad Prism versão 3.0 (GraphPad Software, Inc).

Concentração de leptina sérica

A concentração de leptina sérica foi mensurada com o “kit” comercial de radioimunoensaio (Linco, St. Charles, MO), que é específico para medida quantitativa de leptina em rato (RAT LEPTIN RIA KIT – Cat. RL-83K). O método segue o princípio básico de radioimunoensaio, descrito no tópico Concentração de IGF-1 no soro. As concentrações de leptina presente no soro dos animais foram calculadas no *software* GraphPad Prism versão 3.0 (GraphPad Software, Inc).

Concentração da glicose plasmática

Para determinar a concentração da glicose no plasma dos animais foi utilizado o “kit” comercial da empresa Labtest Diagnóstica – Glicose PAP Liquiform, método enzimático-colorimétrico (GOD/POD). O princípio do método consiste na oxidação da glicose pela ação da enzima glicose oxidase (GOD), que resulta na formação do ácido glucônico e do peróxido de hidrogênio (água oxigenada). O peróxido de hidrogênio reage com 4-aminoantipirina e fenol para formar a antipirilquinonimina vermelha, pela ação da enzima peroxidase (POD). A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de glicose na amostra, que foi medida em espectrofotômetro UV, adotando um comprimento de onda de 505 nm.

Concentração da uréia plasmática

Para determinar a concentração da uréia no plasma dos animais foi utilizado o “kit” comercial da empresa Labtest Diagnóstica – Uréia CE, método enzimático-colorimétrico. O princípio do método consiste na hidrólise da uréia pela ação da enzima urease, que resulta na formação de íons amônio e CO₂. Os íons amônio reagem em meio alcalino com salicilato e hipoclorito de sódio para formar azul de indofenol, pela ação catalisadora do nitroprussiato de

sódio. A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de uréia na amostra, que foi medida em espectrofotômetro UV, adotando um comprimento de onda de 600 nm.

Análise estatística

No estudo I, os resultados relativos aos grupos CON e LEU durante o período experimental foram primeiramente submetidos a um teste de normalidade e a homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Fisher. Foi utilizado o teste- *t* (Student) não pareado para a comparação entre os grupos. As correlações parciais entre os dados foram obtidas por meio de regressão linear (Pearson). A análise estatística foi realizada com o auxílio do *software* GraphPad Prism versão 3.0 (GraphPad Software, Inc). No estudo II, os resultados relativos aos grupos CON e LEU durante o período experimental foram inicialmente avaliados quanto à homogeneidade das variâncias (teste de Hartley) e a seguir tratados por ANOVA para medidas repetidas, seguido de teste de Tukey HSD para comparação de médias. A análise estatística foi realizada com o auxílio do *software* Statistica versão 7 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Em todas as análises um valor $p < 0,05$ foi adotado para diferenças significativas. Todos os resultados estão expressos como média $\pm$ desvio-padrão.

6. RESULTADOS

Conteúdo calórico e protéico nas rações utilizadas nos experimentos I e II

A ração suplementada com leucina apresentou maior percentual de nitrogênio, estatisticamente significativo, quando comparada com a ração controle (Tabela 2). Quando analisado o percentual de proteína das dietas foi verificado que a ração suplementada com leucina apresentou maior valor ($p < 0,002$). O valor calórico da dieta controle (AIN-93M) é estimado em aproximadamente 3,6 kcal/g de ração. Assim, as rações controle e suplementada podem ser consideradas isocalóricas, uma vez que o conteúdo calórico da leucina é semelhante ao do amido substituído.

Tabela 2. Percentual de nitrogênio e de proteína nas rações oferecidas aos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU) dos experimentos I e II

	CON	LEU	p^2
Nitrogênio (%)	$1,97 \pm 0,04^1$	$2,05 \pm 0,04$	0,002
Proteína (%)	$12,35 \pm 0,35$	$12,82 \pm 0,29$	0,002

¹Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão;

²Valores de $p < 0,05$ diferem significativamente.

EXPERIMENTO I

Os resultados apresentados a seguir são referentes ao experimento I, que avaliou o efeito da suplementação crônica de leucina em ratos submetidos a seis semanas de restrição alimentar de 50 %.

Consumo de ração e peso corporal

A quantidade de ração oferecida diariamente para cada animal, durante as seis semanas de restrição alimentar, foi de 11,3 g/d, correspondente a 50 % do consumo médio (22,6 g/d), determinado durante a última semana do período de adaptação. Os animais ingeriram toda a ração diária disponível durante esse período de restrição alimentar. Não houve diferença significativa no peso corporal entre os grupos ao longo do experimento (Figura 4). No final do estudo, os grupos CON e LEU haviam perdido, respectivamente, 10,3 e 13,5 % do peso corporal inicial (Tabela 3).

Tabela 3. Peso corporal (g) dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU) no início e final do experimento, além do peso corporal perdido durante as seis semanas de restrição alimentar de 50 %

	Peso inicial	Peso final	Redução ponderal
CON ¹	309,4 ± 11,3 ³	277,4 ± 11,3	-32,0 ± 16,5
LEU ²	311,5 ± 11,3	269,6 ± 16,1	-42,0 ± 16,2
<i>p</i> ⁴	0,61	0,14	0,12

¹n = 15 animais por grupo;

²n = 13 animais por grupo;

³Os dados correspondem à média do peso corporal em grama (g) ± DP;

⁴Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente.

Figura 4. Peso corporal no decorrer do EXPERIMENTO I: CON, grupo com ração controle (n = 15); LEU, grupo suplementado com leucina (n = 13)

Composição corporal

Os dados da composição química da carcaça são apresentados em termos absolutos na Tabela 4 e em termos percentuais na Tabela 5. Foi observada redução significativa na quantidade e no percentual de gordura corporal no grupo LEU, comparado ao grupo CON. De forma concomitante à redução significativa no percentual de gordura corporal, houve aumento no percentual de MM no grupo suplementado com leucina. No entanto, o valor absoluto de MM (g) não foi diferente entre os grupos experimentais. O grupo LEU apresentou aumento significativo no percentual de cinzas, porém o valor absoluto (g) não diferiu significativamente entre os grupos. Não houve diferença significativa entre os grupos experimentais em relação à massa da carcaça e em relação aos valores absolutos e percentuais de umidade e proteína.

Tabela 4. Massa e composição química da carcaça em termos absolutos (g) dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %

	CON ¹	LEU ²	<i>p</i> ⁴
Massa da carcaça	256,4 ± 13,2 ³	248,5 ± 14,3	0,14
Massa Magra	230,9 ± 11,3	229,2 ± 11,0	0,71
Gordura	25,5 ± 6,9	19,3 ± 8,1	0,03
Proteína	49,4 ± 1,8	49,2 ± 2,8	0,77
Umidade	161,8 ± 9,0	160,0 ± 8,8	0,59
Cinzas	11,1 ± 0,8	11,5 ± 0,7	0,21

¹n = 15 animais por grupo;

²n = 13 animais por grupo;

³Dados expressos como média ± desvio-padrão;

⁴Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente.

Tabela 5. Composição química da carcaça em termos percentuais (%) dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %

	CON ¹	LEU ²	<i>p</i> ⁴
Massa Magra	90,1 ± 2,5 ³	92,3 ± 2,9	0,04
Gordura	9,9 ± 2,5	7,7 ± 2,9	0,04
Proteína	19,3 ± 1,0	19,8 ± 0,8	0,17
Umidade	63,1 ± 1,8	64,4 ± 2,4	0,11
Cinzas	4,0 ± 0,3	4,3 ± 0,4	0,04

¹n = 15 animais por grupo;

²n = 13 animais por grupo;

³Dados expressos como média ± desvio-padrão;

⁴Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente.

Massa de órgãos e músculos

Não foi observada diferença significativa entre os grupos experimentais na massa (g) do fígado, coração, rins, estômago, intestino, baço, músculos gastrocnêmios e no peso total desses tecidos (Tabela 6).

Tabela 6. Massa de órgãos e músculos (g) dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %

	CON ¹	LEU ²	<i>p</i> ⁴
Fígado	7,43 ± 0,88 ³	7,07 ± 1,00	0,32
Coração	0,73 ± 0,07	0,75 ± 0,05	0,39
Estômago	1,73 ± 0,18	1,70 ± 0,24	0,75
Intestino	5,81 ± 1,46	5,59 ± 1,37	0,69
Baço	0,48 ± 0,06	0,49 ± 0,07	0,63
Rins	1,82 ± 0,09 ⁵	1,77 ± 0,14	0,27
Gastrocnêmio	3,78 ± 0,19 ⁵	3,72 ± 0,25	0,55
Peso total	21,76 ± 2,59	21,09 ± 2,64	0,50

¹n = 15 animais por grupo;

²n = 13 animais por grupo;

³Dados expressos como média ± desvio-padrão;

⁴Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente;

⁵representam a soma dos músculos de ambas as patas ou a somatória dos rins.

Parâmetros teciduais

Como pode ser observado na Tabela 7, o grupo LEU apresentou maior concentração de proteína hepática. Porém, o conteúdo de proteína não foi diferente entre os dois grupos experimentais. Também pode ser observado na Tabela 7 que não houve diferença significativa no conteúdo e na concentração hepática de RNA e DNA entre os grupos CON e LEU. Em relação ao músculo gastrocnêmio, pode ser observado na Tabela 8 que o grupo LEU apresentou

aumento significativo na concentração de RNA, porém, o conteúdo de RNA não foi diferente entre os dois grupos experimentais. Pode ser observado, na mesma tabela, que não houve diferença no conteúdo de proteína e de DNA muscular entre os grupos CON e LEU.

Tabela 7. Conteúdos e concentrações de proteína, DNA e RNA no fígado dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %

	CON ¹	LEU ²	<i>p</i> ⁴
Conteúdo de proteína (g)	0,90 ± 0,08 ³	0,90 ± 0,09	0,84
Concentração de proteína (mg/100 mg tecido)	12,18 ± 0,85	12,92 ± 0,82	0,02
Conteúdo de DNA (mg)	15,11 ± 2,32	14,83 ± 1,70	0,70
Concentração de DNA (mg/g proteína)	16,66 ± 1,92	16,51 ± 2,45	0,86
Conteúdo de RNA (mg)	45,42 ± 6,81	43,92 ± 3,60	0,71
Concentração de RNA (mg/g proteína)	50,48 ± 5,62	48,74 ± 5,25	0,41

¹n = 15 animais por grupo;

²n = 13 animais por grupo;

³Dados expressos como média ± desvio-padrão;

⁴Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente.

Tabela 8. Conteúdos e concentrações de proteína, DNA e RNA no músculo gastrocnêmio dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %

	CON ¹	LEU ²	<i>p</i> ⁴
Conteúdo de proteína (g)	0,20 ± 0,01 ³	0,19 ± 0,01	0,08
Concentração de proteína (mg/100 mg tecido)	10,41 ± 0,44	10,15 ± 0,63	0,20
Conteúdo de DNA (mg)	0,66 ± 0,11	0,71 ± 0,13	0,32
Concentração de DNA (mg/g proteína)	3,34 ± 0,47	3,76 ± 0,67	0,06
Conteúdo de RNA (mg)	1,63 ± 0,13	1,67 ± 0,13	0,45
Concentração de RNA (mg/g proteína)	8,29 ± 0,51	8,87 ± 0,67	0,01

¹n = 15 animais por grupo;

²n = 13 animais por grupo;

³Dados expressos como média ± desvio-padrão;

⁴Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente.

Parâmetros séricos

Não foi observada diferença significativa na concentração de leptina sérica entre os grupos experimentais. Porém, a concentração de leptina apresentou correlação positiva e significativa ($r = 0,86$, $p < 0,0001$) com a quantidade de gordura corporal (Figura 5). Pode ser observado na Tabela 9, que não foi encontrada diferença significativa entre os grupos CON e LEU nas concentrações de albumina e de proteínas totais no soro.

Tabela 9. Concentrações séricas de proteínas totais, albumina e leptina dos animais dos grupos controle (CON) e suplementado (LEU), após seis semanas de restrição alimentar de 50 %

	Proteínas totais (g/dL)	Albumina (g/dL)	Leptina (ng/mL)
CON ¹	6,73 ± 0,38 ³	4,43 ± 0,25	2,47 ± 1,59 ⁵
LEU ²	6,56 ± 0,34	4,44 ± 0,23	1,31 ± 0,74 ⁶
<i>P</i> ⁴	0,23	0,92	0,08

¹n = 15 animais por grupo;

²n = 13 animais por grupo;

³Dados expressos como média ± desvio-padrão;

⁴Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente;

⁵n = 10 resultados por grupo;

⁶n = 8 resultados por grupo.

Figura 5. Correlação (Pearson) entre a concentração de leptina sérica e a quantidade de gordura corporal (n = 8-10/grupo; *r* = 0,8801; *p* < 0,0001).

EXPERIMENTO II

O experimento II avaliou o efeito da suplementação crônica de leucina em ratos submetidos a uma semana de restrição alimentar de 50 % e, posteriormente, a duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum*.

Consumo de ração

A quantidade de ração oferecida diariamente para cada animal, durante a fase de restrição alimentar, foi de 12 g/d, correspondente a 50 % do consumo médio (24 g/d), determinado durante a última semana do período de adaptação. Os animais ingeriram toda a ração diária disponível durante a semana de restrição alimentar. O consumo de ração dos animais dos grupos CON e LEU, durante período de recuperação nutricional (1ª semana, 2ª semana e total) não apresentou diferença significativa (Tabela 10).

Tabela 10. Consumo de ração dos animais dos grupos CON e LEU, submetidos a duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum*

	1ª semana	2ª semana	Total
CON ¹	26,6 ± 3,4 ²	22,8 ± 2,2	24,7 ± 2,6
LEU ¹	26,9 ± 3,1	22,6 ± 2,3	24,7 ± 2,4
<i>p</i> ³	0,96	0,37	0,65

¹n = 15 animais por grupo;

²Os dados correspondem à média do consumo de ração em grama (g) ± DP;

³Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente.

Peso corporal

Os animais dos grupos CON e LEU iniciaram o experimento com peso corporal igual. Após uma semana de restrição alimentar foi observado que os animais dos dois grupos apresentaram menor peso corporal ($p < 0,01$) em relação ao peso inicial. Porém, não foi observado efeito da suplementação ($p > 0,05$) durante este período. Após duas semanas de recuperação nutricional foi observado que os animais dos grupos CON e LEU apresentaram maior peso corporal ($p < 0,01$) em relação ao peso inicial e ao peso apresentado após uma semana de restrição alimentar ($p < 0,01$). Porém, não foi observado efeito da suplementação ($p > 0,05$) durante este período (Tabela 11).

Tabela 11. Peso corporal inicial, após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum* (T1), nos grupos controle (CON) e leucina (LEU)

	Inicial ¹	T0 ¹	T1 ²	p^5
CON	314,1 ± 15,3 ^{3a}	292,9 ± 13,4 ^b	368,5 ± 25,3 ^c	<0,01
LEU	314,0 ± 14,0 ^{4a}	294,9 ± 14,0 ^b	370,3 ± 20,7 ^c	<0,01

¹n = 30 animais por grupo;

²n = 15 animais por grupo;

³Os dados correspondem à média do peso corporal em grama (g) ± desvio-padrão;

⁴Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem significativamente ($p > 0,05$);

⁵Valores de $p < 0,05$ diferem significativamente.

Composição corporal

Após duas semanas de recuperação nutricional foi observado que os animais dos grupos CON e LEU apresentaram maior quantidade de massa da carcaça e de seus constituintes (massa magra, gordura, proteína, umidade e cinzas) em relação ao apresentado após uma semana de restrição alimentar ($p < 0,01$). Porém, não foi observado efeito da suplementação ($p > 0,05$) nestes parâmetros durante estes períodos (Tabela 12). Resultados semelhantes podem ser observados em relação aos percentuais de massa magra, gordura e umidade da carcaça dos animais dos dois grupos (Tabela 13). Não foi encontrado efeito do consumo de ração e da suplementação ($p = 0,59$) no percentual de proteína da carcaça dos animais dos dois grupos. Analisando esta mesma tabela foi verificado que o grupo CON, após período de recuperação nutricional, apresentou maior percentual de cinzas na carcaça ($p < 0,01$) em relação ao apresentado após uma semana de restrição alimentar. Já o grupo LEU apresentou o mesmo percentual ($p > 0,05$) após o final de cada período. Não foi encontrado efeito do consumo de ração e da suplementação ($p > 0,05$) no percentual de cinzas da carcaça dos animais dos dois grupos.

Tabela 12. Massa e composição química da carcaça, em termos absolutos (g), dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum* (T1)

	T0		T1		p^d
	CON ¹	LEU ¹	CON ¹	LEU ¹	
Massa da carcaça	266,8 ± 12,2 ^{2a}	270,1 ± 12,9 ^{3a}	328,9 ± 20,9 ^b	330,5 ± 15,3 ^b	<0,01
Massa Magra	238,1 ± 14,6 ^a	238,0 ± 10,7 ^a	270,1 ± 21,1 ^b	276,6 ± 11,6 ^b	<0,01
Gordura	28,6 ± 6,5 ^a	32,0 ± 9,0 ^a	59,1 ± 10,1 ^b	53,5 ± 12,5 ^b	<0,01
Proteína	53,4 ± 6,1 ^a	54,0 ± 4,9 ^a	62,7 ± 7,9 ^b	64,9 ± 4,9 ^b	<0,01
Umidade	155,9 ± 9,5 ^a	156,4 ± 7,3 ^a	178,9 ± 15,8 ^b	182,1 ± 11,4 ^b	<0,01
Cinzas	16,1 ± 1,4 ^a	16,5 ± 1,6 ^a	21,8 ± 1,5 ^b	20,9 ± 1,9 ^b	<0,01

¹n = 15 animais por grupo;

²Valores são médias ± desvio-padrão;

³Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem significativamente ($p > 0,05$);

⁴Valores de $p < 0,05$ diferem significativamente.

Tabela 13. Composição química da carcaça, em termos percentuais (%), dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum* (T1)

	T0		T1		p^4
	CON ¹	LEU ¹	CON ¹	LEU ¹	
Massa Magra	89,2 ± 2,7 ^{2a}	88,2 ± 3,1 ^{3a}	82,1 ± 3,2 ^b	83,9 ± 3,2 ^b	<0,01
Gordura	10,8 ± 2,7 ^a	11,8 ± 3,1 ^a	17,9 ± 3,2 ^b	16,1 ± 3,2 ^b	<0,01
Proteína	20,0 ± 2,0	20,0 ± 1,8	19,1 ± 2,5	19,7 ± 1,7	0,59
Umidade	58,5 ± 1,7 ^a	57,9 ± 1,8 ^a	54,3 ± 2,5 ^b	55,2 ± 3,4 ^b	<0,01
Cinzas	6,0 ± 0,3 ^a	6,1 ± 0,4 ^a	6,6 ± 0,5 ^b	6,3 ± 0,5 ^{ab}	<0,01

¹n = 15 animais por grupo;

²Valores são médias ± desvio-padrão;

³Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem significativamente ($p > 0,05$);

⁴Valores de $p < 0,05$ diferem significativamente.

Massa de órgãos e músculo

Não houve efeito significativo do consumo de ração e da suplementação ($p>0,05$) na massa do fígado e do estômago dos animais dos grupos CON e LEU (Tabela 14). Após duas semanas de recuperação nutricional foi observado que os animais dos grupos CON e LEU apresentaram maior massa do coração, dos rins, do baço e dos músculos gastrocnêmios, em relação ao apresentado após uma semana de restrição alimentar ($p<0,01$). Porém, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) nestes parâmetros durante estes períodos. Foi observado que o grupo CON, após período de recuperação nutricional com ração *ad libitum*, apresentou maior massa do intestino ($p=0,01$) em relação ao apresentado após uma semana de restrição alimentar. Já o grupo LEU apresentou a mesma massa ($p>0,05$) após os dois períodos. No entanto, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) neste parâmetro ao final de cada período.

Tabela 14. Peso de tecidos e órgãos (g) dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum* (T1)

	T0		T1		p^5
	CON ¹	LEU ¹	CON ¹	LEU ¹	
Fígado	9,77 ± 0,75 ²	10,35 ± 0,80	9,46 ± 1,06	9,51 ± 1,04	0,05
Estômago	1,83 ± 0,18	1,73 ± 0,22	1,71 ± 0,23	1,73 ± 0,12	0,29
Coração	0,78 ± 0,05 ^{3a}	0,80 ± 0,08 ^a	0,96 ± 0,10 ^b	0,95 ± 0,08 ^b	<0,01
Rins	1,89 ± 0,14 ^{4a}	1,99 ± 0,16 ^a	2,30 ± 0,24 ^b	2,26 ± 0,20 ^b	<0,01
Intestino	8,06 ± 0,54 ^a	8,26 ± 0,73 ^{ab}	8,76 ± 0,87 ^b	8,57 ± 0,82 ^{ab}	0,01
Baço	0,50 ± 0,05 ^a	0,53 ± 0,06 ^a	0,63 ± 0,10 ^b	0,63 ± 0,07 ^b	<0,01
Gastrocnêmio	3,58 ± 0,22 ^{4a}	3,61 ± 0,18 ^a	4,23 ± 0,32 ^b	4,30 ± 0,45 ^b	<0,01
Peso total	26,46 ± 1,41	27,25 ± 1,22	28,07 ± 2,56	27,98 ± 2,24	0,05

¹n = 15 animais por grupo;

²Valores são médias ± desvio-padrão;

³Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem significativamente ($p > 0,05$);

⁴Representam a soma dos músculos de ambas as patas ou a somatória dos rins;

⁵Valores de $p < 0,05$ diferem significativamente.

Parâmetros teciduais

Foi observado que o grupo CON, após período de recuperação nutricional, apresentou maior conteúdo de proteína hepática ($p=0,01$) em relação ao apresentado após uma semana de restrição alimentar. Já o grupo LEU apresentou o mesmo valor ($p>0,05$) após os dois períodos. Todavia, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) neste parâmetro ao final de cada fase do experimento (Tabela 15). Após período de recuperação nutricional foi observado que os animais dos grupos CON e LEU apresentaram maior concentração de proteína no fígado, em relação ao apresentado após uma semana de restrição alimentar ($p<0,01$). Porém, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) neste parâmetro durante estes períodos (Tabela 15).

Em relação ao RNA hepático (Tabela 15) foi observado que o grupo CON, após período de recuperação nutricional, apresentou maior conteúdo de RNA ($p<0,01$) em relação ao apresentado após uma semana de restrição alimentar. Já o grupo LEU apresentou o mesmo valor ($p>0,05$) após os dois períodos. No entanto, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) neste parâmetro ao final de cada período. A concentração de RNA no fígado dos animais do grupo CON, após período de recuperação nutricional, foi maior ($p=0,04$) em relação à observada no fígado dos animais do grupo LEU após período de restrição alimentar. Além disso, não foram observadas diferenças significativas nas demais comparações entre grupos que envolveram este parâmetro. Na mesma tabela, pode ser observado que não foi encontrado efeito ($p>0,05$) do consumo de ração e da suplementação ($p>0,05$) no conteúdo e na concentração de DNA no fígado dos animais dos dois grupos.

Referente ao músculo gastrocnêmio, pode ser observado na Tabela 16 que após recuperação nutricional os animais dos grupos CON e LEU apresentaram maiores conteúdos ($p<0,01$) de proteína, em relação ao apresentado após restrição alimentar. Porém, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) neste parâmetro durante estes períodos. Pode ser observado, também, que não foi encontrado efeito ($p=0,05$) do consumo de ração e da suplementação ($p=0,05$) na concentração de proteína no músculo gastrocnêmio dos animais desses grupos. Este resultado também foi encontrado em relação ao conteúdo de RNA muscular ($p=0,27$).

Na Tabela 16, também pode ser observado que as concentrações de RNA no músculo gastrocnêmio dos animais de ambos os grupos foram maiores após período de recuperação nutricional, em relação às apresentadas por estes grupos após restrição alimentar. Todavia, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) neste parâmetro durante estes períodos. Após recuperação nutricional foi observado que os animais dos grupos CON e LEU apresentaram maiores conteúdos e concentrações ($p<0,01$) de DNA no músculo gastrocnêmio, em relação aos apresentados após restrição alimentar. Porém, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) nestes parâmetros durante estes períodos.

Tabela 15. Conteúdos e concentrações de proteína, RNA e DNA no fígado dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum* (T1)

	T0		T1		p^4
	CON ¹	LEU ¹	CON ¹	LEU ¹	
Conteúdo de proteína (g)	0,88 ± 0,07 ^{2a}	0,96 ± 0,10 ^{3ab}	1,02 ± 0,12 ^b	0,96 ± 0,06 ^{ab}	0,01
Concentração de Proteína (mg/100 mg tecido)	8,97 ± 0,69 ^a	9,27 ± 0,92 ^a	10,76 ± 0,87 ^b	10,19 ± 0,87 ^b	<0,01
Conteúdo de RNA (mg)	62,18 ± 8,53 ^a	63,73 ± 9,75 ^a	74,44 ± 8,80 ^b	67,21 ± 4,69 ^{ab}	<0,01
Concentração de RNA (mg/g proteína)	71,0 ± 7,83 ^{ab}	66,58 ± 7,77 ^a	73,04 ± 5,51 ^b	69,77 ± 2,67 ^{ab}	0,04
Conteúdo de DNA (mg)	15,09 ± 1,47	15,61 ± 1,60	16,52 ± 3,15	15,50 ± 2,43	0,15
Concentração de DNA (mg/g proteína)	17,26 ± 1,30	16,33 ± 1,16	16,15 ± 2,31	16,03 ± 1,94	0,30

¹n = 15 animais por grupo;

²Valores são médias ± desvio-padrão;

³Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem significativamente ($p > 0,05$);

⁴Valores de $p < 0,05$ diferem significativamente.

Tabela 16. Conteúdos e concentrações de proteína, RNA e DNA no músculo gastrocnêmio dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum* (T1)

	T0		T1		p^4
	CON ¹	LEU ¹	CON ¹	LEU ¹	
Conteúdo de proteína (g)	0,17 ± 0,03 ^{2a}	0,17 ± 0,02 ^{3a}	0,21 ± 0,03 ^b	0,23 ± 0,01 ^b	<0,01
Concentração de Proteína (mg/100 mg tecido)	9,57 ± 1,59	10,01 ± 1,38	10,60 ± 0,65	10,50 ± 0,63	0,05
Conteúdo de RNA (mg)	1,95 ± 0,22	1,95 ± 0,17	2,01 ± 0,25	2,13 ± 0,29	0,27
Concentração de RNA (mg/g proteína)	11,47 ± 2,30 ^a	11,42 ± 2,03 ^a	9,59 ± 0,68 ^b	9,27 ± 0,96 ^b	<0,01
Conteúdo de DNA (mg)	0,34 ± 0,06 ^a	0,37 ± 0,05 ^a	0,76 ± 0,14 ^b	0,75 ± 0,08 ^b	<0,01
Concentração de DNA (mg/g proteína)	2,04 ± 0,40 ^a	2,14 ± 0,46 ^a	3,59 ± 0,56 ^b	3,32 ± 0,36 ^b	<0,01

¹n = 15 animais por grupo;

²Valores são médias ± desvio-padrão;

³Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem significativamente ($p > 0,05$);

⁴Valores de $p < 0,05$ diferem significativamente.

Parâmetros séricos e plasmáticos

Não foi encontrado efeito da suplementação ($p>0,05$) nas concentrações séricas de IGF-1 e de albumina após restrição alimentar e período de recuperação nutricional dos animais dos dois grupos (Tabela 17). Todavia, o grupo LEU, após período de recuperação, apresentou maior concentração de IGF-1 ($p<0,01$) e menor concentração de albumina ($p=0,01$) do que o grupo CON, após restrição alimentar. Foi encontrado efeito da suplementação ($p<0,01$) na concentração plasmática da uréia após período de recuperação nutricional, sendo observada maior concentração no grupo LEU em relação ao grupo CON. Também foi observado que, após recuperação nutricional, os animais dos grupos CON e LEU apresentaram menor concentração de glicose plasmática ($p<0,01$) em relação ao apresentado pelos mesmos grupos após restrição alimentar. No entanto, não foi observado efeito da suplementação ($p>0,05$) neste parâmetro após final de cada períodos. Não foi encontrado efeito ($p>0,05$) do consumo de ração e da suplementação ($p>0,05$) nas concentrações séricas de corticosterona, proteínas totais e globulinas dos animais dos dois grupos.

Tabela 17. Concentrações de IGF-1, corticosterona, proteínas totais, albumina, globulina, uréia e glicose dos animais nos grupos controle (CON) e leucina (LEU), após uma semana de restrição alimentar de 50 % (T0) e após duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum* (T1)

	T0		T1		<i>p</i> ⁴
	CON ¹	LEU ¹	CON ¹	LEU ¹	
IGF-1(ng/dL)	1256 ± 180 ^{2a}	1390 ± 253 ^{3ab}	1393 ± 185 ^{ab}	1601 ± 237 ^b	<0,01
Corticosterona (ng/mL)	544 ± 296	495 ± 298	584 ± 299	629 ± 368	0,64
Proteínas totais (g/dL)	8,22 ± 0,61	8,48 ± 0,57	8,36 ± 0,71	8,24 ± 0,72	0,33
Albumina (g/dL)	4,26 ± 0,26 ^a	4,22 ± 0,40 ^{ab}	4,0 ± 0,4 ^{ab}	3,87 ± 0,41 ^b	0,01
Globulina (g/dL)	3,95 ± 0,63	4,25 ± 0,70	4,3 ± 0,4	4,36 ± 0,46	0,39
Uréia (mg/dl)	21,2 ± 3,9 ^a	21,3 ± 4,1 ^a	23,24 ± 3,14 ^a	28,37 ± 5,77 ^b	<0,01
Glicose (mg/dl)	130 ± 12 ^a	134,8 ± 7,1 ^a	97,1 ± 10,6 ^b	100,6 ± 8,3 ^b	<0,01

¹n = 15 animais por grupo;

²Valores são médias ± desvio-padrão;

³Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem significativamente (*p* > 0,05);

⁴Valores de *p* < 0,05 diferem significativamente.

7. DISCUSSÃO

EXPERIMENTO I

O presente estudo testou a hipótese de que a suplementação crônica com leucina pode alterar favoravelmente a composição corporal e o estado nutricional protéico em ratos adultos submetidos a seis semanas de restrição alimentar de 50 %. Observou-se que os animais suplementados com leucina apresentaram 25 % menos gordura na carcaça, quando comparados ao grupo controle ($p=0,03$). Além disso, os animais suplementados apresentaram maiores valores em alguns parâmetros indicativos do estado nutricional protéico, conforme foi observado pelo aumento significativo nas concentrações de proteína hepática e de RNA muscular ($p<0,05$).

A suplementação com leucina causou perda de peso adicional de 31 % (10 g) nos ratos do grupo LEU em relação àqueles do grupo CON ou perda equivalente a 13,5 e 10,3 %, respectivamente, do peso corporal inicial; porém, esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,12$). Embora esta diferença na redução do peso corporal entre os animais dos dois grupos não tenha sido significativa, cabe ressaltar que pequenas reduções no peso corporal (5 a 10 %) são associadas com melhora significativa do controle da glicemia, da dislipidemia e da hipertensão arterial em indivíduos (NIH, 1998). Todavia, o que não é claro nesta constatação é se a redução de 5 a 10 % do peso corporal deve ser composta predominantemente de gordura ou deve atender a razão considerada “ótima”, e ser composta de no máximo 25 % de MM e de no mínimo 75 % de gordura. No presente estudo, ao se analisar a composição da perda de peso adicional (-7,9 g na carcaça) observada nos animais do grupo LEU, nota-se que foi composta de, aproximadamente, 78 % de gordura e 22 % de MM. Melhor, o grupo LEU terminou o experimento com -6,2 g de gordura e -1,7 g de MM, em relação ao grupo CON. Dessa forma, em termos proporcionais, a redução de gordura foi muito mais expressiva quando comparada à redução de MM, uma vez que essa quantidade, perdida adicionalmente, equivale a ~25 % da gordura corporal apresentada pelos

animais do grupo CON, enquanto a diferença no valor perdido de MM representa menos de 1 % do total de MM na carcaça dos animais de ambos os grupos. Assim, pode ser sugerido que a suplementação com leucina favorece, preferencialmente, a diminuição de gordura corporal durante redução de peso ocasionada por restrição alimentar.

Na literatura existem evidências que sugerem, indiretamente, que a maior ingestão de leucina pode aumentar a redução de gordura e peso corporal (MOURIER *et al.*, 1997; FARNSWORTH *et al.*, 2003; LAYMAN *et al.*, 2003; BUCHHOLZ & SCHOELLER, 2004, HALTON & HU, 2004; LAYMAN *et al.*, 2005). Estudos que compararam dietas com diferentes proporções de proteína verificaram que as dietas com maior proporção de proteína e menor de carboidrato promovem maior perda de peso, maior redução de gordura corporal e menor perda de MM, quando comparadas às dietas convencionais (FARNSWORTH *et al.*, 2003; LAYMAN *et al.*, 2003; BUCHHOLZ & SCHOELLER, 2004, HALTON & HU, 2004; LAYMAN *et al.*, 2005). Desta maneira, observa-se, nestes estudos, que a perda de peso é composta principalmente de gordura corporal. Algumas hipóteses foram propostas para explicar os efeitos favoráveis das dietas com maior proporção de proteína na composição corporal, entre essas: 1) manutenção das concentrações dos hormônios tireoidianos T_3 e T_4 durante a redução de peso; 2) menor resposta insulinêmica ocasionada pela reduzida quantidade de carboidrato na dieta (perfil endócrino associado com maior estímulo à lipólise) e 3) preservação da proteína corporal durante o emagrecimento (LAYMAN *et al.*, 2003; LAYMAN *et al.*, 2005). No presente estudo, estes hormônios não foram determinados, fato que limita uma discussão com base nestes parâmetros. Todavia, foi constatado que a maior redução de gordura corporal observada no grupo LEU não está associada aos conteúdos de MM ou de proteína da carcaça dos animais suplementados, pois não houve diferença significativa nestes parâmetros entre os dois grupos experimentais.

Também é sugerido que parte dos benefícios promovidos pela dieta com maior proporção de proteína na composição corporal pode ser atribuída à maior ingestão dos ACR (leucina, isoleucina e valina); particularmente do aminoácido leucina (MOURIER *et al.*, 1997; LAYMAN *et al.*, 2003; LAYMAN *et*

al., 2005). No estudo realizado por Mourier *et al.* (1997), que avaliaram o efeito da suplementação crônica dos ACR em lutadores submetidos a 19 dias de restrição calórica, foi observado que a restrição calórica aliada à suplementação com ACR (76 % de leucina, 19 % de isoleucina e 5 % de valina) foi mais efetiva na redução do peso e da gordura corporal, quando comparada à restrição calórica isolada. Foi encontrado, também, que a restrição calórica aliada à suplementação com ACR aumentou a concentração plasmática do hormônio do crescimento, quando comparada à restrição calórica isolada. A concentração deste hormônio no grupo suplementado foi considerada, por estes autores, a responsável pela maior redução de gordura corporal, visto que o hormônio do crescimento tem ação lipolítica com a conseqüente mobilização das reservas de gordura corporais para produção de energia, que é utilizada principalmente para a síntese protéica no músculo esquelético (VANHELDER, RADOMSKI & GOODE, 1984; JACOBSON, 1990).

No presente estudo, uma hipótese que pode explicar a menor quantidade de gordura corporal no grupo suplementado está relacionada ao estímulo da leucina na síntese protéica (PATTI *et al.*, 1998; ANTHONY *et al.*, 2001; LYNCH *et al.*, 2002). É fato sobejamente conhecido que o aumento da taxa de síntese protéica aumenta o gasto energético (ROBINSON *et al.*, 1990) e, se a ingestão calórica for mantida, conforme ocorreu no presente estudo, essa demanda adicional de energia pode ser suprida, principalmente, pela oxidação da gordura corporal. Assim, considerando que cada grama de gordura corporal representa 9 kcal e que o consumo calórico total no período de 6 semanas de restrição alimentar foi de 1.709,4 kcal (considerando a ingestão de 40,7 kcal/dia), seria necessário o aumento de 3,3% no gasto energético para promover a redução adicional de 6,3 g de gordura – que foi observada no grupo LEU ($[(6,3 \text{ g} \times 9 \text{ kcal/g}) / (40,7 \text{ kcal/dia} \times 42 \text{ dias}) \times 100]$). Este fato sugere que não é necessário que a suplementação com leucina promova acentuadas repercussões no metabolismo para haver redução significativa na gordura corporal, desde que esses efeitos se mantenham no longo prazo, principalmente quando se considera a baixa dose utilizada no presente experimento.

Outra hipótese que poderia explicar a menor quantidade de gordura corporal no grupo suplementado foi avaliada no presente estudo e se refere ao efeito da leucina na síntese de leptina. Evidências experimentais demonstram que a concentração de leptina sérica apresenta correlação positiva com a quantidade de gordura corporal (MAFFEI *et al.*, 1995; KOUTKIA *et al.*, 2003). Os valores de leptina encontrados no presente estudo são semelhantes aos dados da literatura, pois sua concentração apresentou correlação diretamente proporcional e significativa com a quantidade de gordura corporal ($r=0,8801$; $p<0,0001$). Outros estudos demonstraram que a leucina regula a síntese protéica no tecido adiposo, bem como a síntese e secreção *in vitro* de leptina (LYNCH *et al.*, 2002; ROH *et al.*, 2003). Desta forma, pode-se especular que a suplementação crônica com leucina seria capaz de aumentar a concentração da leptina no soro dos animais, independentemente de alterações na quantidade de gordura corporal. De acordo com essa hipótese, a maior oferta de leucina seria capaz de aumentar a secreção de leptina, um hormônio que reduz a ingestão alimentar e estimula o gasto energético (PELLEYMOUNTER *et al.*, 2002). No entanto, o fato do grupo LEU ter apresentado concentração de leptina 47 % menor em relação ao grupo CON ($p=0,08$) e o fato dos valores de leptina se correlacionarem com a quantidade de gordura corporal descartam a possibilidade de interferência direta da suplementação na concentração desse hormônio no soro dos animais suplementados.

O presente estudo também testou a hipótese de que a suplementação crônica com leucina, em ratos submetidos a seis semanas de restrição alimentar de 50 %, poderia diminuir a perda de MM durante a redução de peso. Entretanto, o grupo suplementado não apresentou alteração significativa no conteúdo de MM e de proteína na carcaça em relação ao grupo CON. Embora a hipótese do presente estudo não tenha sido comprovada, existem evidências experimentais que sugerem indiretamente que a leucina atenua a perda de proteína no organismo em períodos catabólicos. Estudos realizados em indivíduos acamados indicam que a suplementação com ACR favorece a retenção de nitrogênio no organismo (STEIN *et al.*, 1999 e 2003). A suplementação com β -hidroxi- β -metilbutirato, um composto intermediário da degradação da leucina, aumentou a MM e a força muscular durante um

programa de treinamento para perda de peso em homens saudáveis (JÓWKO *et al.*, 2001). Além disso, em um experimento realizado com suplementação crônica de L-leucina+L-fenilalanina foi observado aumento significativo do conteúdo de proteína (+17,7 %) e de MM (+11,6 %) na carcaça de ratos submetidos a 3 ciclos de variação de peso corporal, quando comparado ao grupo submetido ao mesmo protocolo de variação de peso e sem suplementação (DONATO *et al.*, dados não publicados).

A ausência de alterações nos valores de MM (g) e de proteína (g) na carcaça dos animais suplementados pode ser atribuída ao desenho experimental empregado, no qual os animais foram submetidos a um período de restrição alimentar ininterrupto e relativamente longo. Nesse sentido, mesmo que a suplementação com leucina tenha favorecido a síntese protéica, isso não foi suficiente para superar condições severamente catabólicas, a ponto de preservar a quantidade de proteína corporal. Aumento da taxa de síntese protéica não necessariamente resulta em acréscimo no conteúdo de proteína na carcaça, pois pode haver aumento paralelo da degradação protéica (AFOLABI *et al.*, 2004). Nesse caso, há aumento da renovação protéica sem, no entanto, resultar em alteração na quantidade de proteína corporal. Cabe ressaltar que talvez o aumento da renovação protéica, ao invés de o aumento da síntese protéica, seja a melhor hipótese para explicar o menor conteúdo de gordura corporal encontrado nos animais suplementados com leucina. Ainda em relação à composição corporal, foi verificado que o grupo LEU apresentou maior percentual de MM ($p=0,04$). Este fato se deve ao menor percentual de gordura apresentado por este grupo, uma vez que o valor de MM foi obtido da subtração do percentual de gordura da carcaça dos animais. Portanto, futuras pesquisas destinadas a avaliar o efeito da suplementação crônica com ACR, ou apenas com leucina, na perda de peso ou na composição corporal, podem ajudar a responder às questões levantadas no presente estudo – se avaliarem o gasto energético.

Períodos de restrição alimentar, dependendo da duração e do grau de severidade, podem afetar negativamente o estado nutricional protéico e reduzir os conteúdos de proteína e RNA teciduais (REITER *et al.*, 2005). No presente estudo, o grupo LEU apresentou maior concentração de proteína hepática

($p=0,02$) e de RNA no músculo gastrocnêmio ($p=0,01$), em relação ao grupo CON. Em relação ao fígado, os dois grupos apresentaram o mesmo conteúdo protéico, sugerindo que outros fatores podem ter contribuído para a maior concentração de proteína nesse órgão no grupo LEU. Também pode ser sugerido que o principal fator esteja relacionado ao peso do fígado no grupo LEU (-5 %), que pode ter contribuído para a maior concentração de proteína hepática (+6 %) neste grupo.

A maior concentração de RNA (+6,9 %; $p=0,01$) observada no músculo gastrocnêmio dos animais do grupo LEU não foi acompanhada de aumento significativo do conteúdo de proteína (-5 %; $p=0,08$) neste tecido. Embora a concentração de RNA total seja considerada um indicador da capacidade celular para síntese protéica, maior valor deste parâmetro pode não representar acréscimo no conteúdo protéico tecidual, pois o valor de RNA indica um potencial que pode ou não ser utilizado, dependendo da situação: por exemplo, disponibilidade de energia ou de substrato para a síntese protéica, concentração de hormônios e nutrientes e estado nutricional prévio (MILLWARD *et al.*, 1974; MILLWARD & WATERLOW, 1978; LYNCH *et al.*, 2002). Assim, pode ser especulado que, se a concentração de RNA muscular dos animais suplementados aumentou a síntese protéica, este aumento não foi refletido em maior conteúdo de proteína, devido, provavelmente, a elevação paralela da degradação protéica neste tecido. A maior concentração de RNA observada no músculo gastrocnêmio dos animais do grupo LEU também não foi acompanhada de alteração significativa do conteúdo de RNA (+2,4 %; $p=0,45$) neste tecido. Este fato pode estar relacionado ao conteúdo de proteína muscular (-5%), uma vez que este parâmetro é obtido de uma relação entre o conteúdo de proteína e o de RNA deste tecido. Também pode ser especulado, no presente estudo, que a suplementação com leucina contribuiu com a maior concentração de RNA no músculo gastrocnêmio dos animais do grupo LEU, ao estimular principalmente os mecanismos intracelulares envolvidos com a síntese de componentes que constituem o aparato responsável pelo processo de tradução protéica (ANTHONY *et al.*, 2001; LYNCH *et al.*, 2002).

EXPERIMENTO II

O presente estudo testou a hipótese de que a suplementação crônica com leucina pode alterar favoravelmente a composição corporal e o estado nutricional protéico em ratos adultos submetidos a uma semana de restrição alimentar de 50 % e a duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum*. Observou-se que a suplementação com leucina, após uma semana de restrição alimentar de 50 %, diferentemente do observado após seis semanas de restrição alimentar de 50 %, não alterou a gordura corporal e os parâmetros indicativos do estado nutricional protéico dos animais suplementados. Também foi observado que não houve alterações na massa do intestino e nos conteúdos de proteína e de RNA no fígado dos ratos suplementados durante estes períodos. Além disso, foi observado que a suplementação com leucina aumentou a uremia dos animais do grupo LEU ($<0,01$), em relação ao grupo CON, após período de recuperação nutricional.

Após uma semana de restrição alimentar de 50 % – período caracterizado pela rápida perda de peso corporal – observou-se que não houve diferença na redução de peso entre os grupos CON e LEU. Este resultado foi semelhante ao encontrado no experimento I, que avaliou o efeito da suplementação com leucina, neste parâmetro, durante seis semanas com a mesma privação alimentar (Figura 4). Também foi constatado, que após duas semanas de recuperação nutricional com ração *ad libitum*, a suplementação com leucina não alterou o ganho de peso do grupo LEU, sendo o valor encontrado igual ao do grupo CON. Outros trabalhos também não observaram efeito da suplementação crônica com leucina no ganho de peso corporal em ratos (LYNCH *et al.*, 2002; VENTRUCCI *et al.*, 2004). No estudo realizado por Lynch *et al.* (2002), foi observado que a suplementação com leucina em ratos Sprague-Dawley machos, com ração *ad libitum* durante período de 12 dias, não alterou o ganho de peso corporal, quando comparado ao ganho de peso alcançado pelos animais do grupo controle. Em outro estudo, realizado com ratos Wistar machos, foi verificado que a suplementação crônica com leucina não afetou o ganho de peso dos animais suplementados após período de recuperação nutricional de 60 dias, o qual foi antecedido de outra fase de 60

dias de desnutrição protéica (VENTRUCCI *et al.*, 2004). Assim, diante dos resultados apresentados, pode ser sugerido que a suplementação crônica com leucina não afeta a variação de peso corporal.

No presente estudo, os animais dos grupos CON e LEU não apresentaram diferenças significativas nos conteúdos e nos percentuais de gordura corporal após uma semana de restrição alimentar de 50 %, resultado diferente do encontrado no experimento I, quando foram observadas reduções significativas nestes parâmetros nos animais do grupo LEU após seis semanas com a mesma privação alimentar. Esta diferença existente entre os resultados encontrados nos dois experimentos pode estar relacionada com as distintas fases do processo de emagrecimento dos animais, que foram observadas após seis semanas com restrição alimentar de 50 %. De acordo com a Figura 4, este processo se divide em duas etapas bem distintas: a primeira caracterizada pela perda rápida de peso corporal, que ocorre na primeira semana; e a segunda pela redução lenta do peso corporal, que ocorre a partir do fim da primeira semana e se estende até o fim da sexta semana. Tem sido relatado que, durante a primeira fase do processo de emagrecimento ocasionado pela redução da ingestão de alimentos, o peso corporal perdido é composto pela maior proporção de MM e menor proporção de gordura e que durante a fase caracterizada pela redução lenta do peso corporal, a gordura é o principal componente do peso corporal perdido (HEYMSFIELD *et al.*, 1989). Esta preferência na mobilização de substratos metabólicos nas fases distintas do processo de emagrecimento também foi observada no presente estudo, a partir da análise dos resultados referentes à composição corporal dos experimentos I e II. Analisando os dados, pode ser verificado que, após uma semana de restrição alimentar de 50 % (Experimento II), os animais dos grupos CON e LEU apresentavam, em média, 88,7 % de MM e 11,3 % de gordura, respectivamente, enquanto que após seis semanas de restrição alimentar de 50 % (Experimento I), os animais dos grupos CON e LEU apresentavam, em média, 91,2 % de MM e 8,8 % de gordura, respectivamente. Esta observação somada, ao fato dos animais do grupo LEU terem apresentado o mesmo conteúdo de gordura na carcaça, após uma semana de restrição alimentar, e 25 % menos gordura na carcaça, após seis semanas com a mesma privação alimentar, em relação aos

animais controles, sugere que o efeito da suplementação com leucina (0,06 %) na mobilização de gordura corporal ocorre apenas na fase de perda lenta de peso.

A suplementação com leucina também não conseguiu atenuar a perda de MM e de proteína da carcaça dos animais do grupo LEU após uma semana de restrição alimentar, não confirmando a hipótese de que esta suplementação beneficiaria estes parâmetros durante a fase de redução de peso caracterizada pela maior contribuição da oxidação de proteína para atender o déficit energético. No estudo atual, diferentemente do estudo anterior (experimento I), não pode ser especulado que a suplementação com leucina aumentou a síntese protéica, pois não existem indícios de que esta suplementação tenha elevado a demanda energética dos animais do grupo LEU durante a semana de restrição alimentar de 50 %.

A hipótese de que a suplementação com leucina pudesse afetar positivamente a composição corporal, principalmente por aumentar a MM dos animais suplementados, após período de recuperação nutricional, não foi confirmada no presente estudo. Isto se deve ao fato dos animais dos grupos CON e LEU não terem apresentado diferenças significativas nos conteúdos de constituintes corporais após este período. Por outro lado, ao serem analisadas as diferenças entre os conteúdos dos constituintes corporais, obtidas a partir da subtração dos valores encontrados após restrição alimentar dos valores encontrados após recuperação nutricional, nota-se que essas foram maiores em relação à MM (20,6 %), à proteína (17,2 %) e à umidade (11 %), e menor em relação à gordura (29,5 %), para os animais do grupo LEU. Assim, pode ser especulado que os animais do grupo LEU, embora não tenham apresentado diferenças significativas em relação aos conteúdos dos constituintes corporais, quando comparados aos animais do grupo CON, incorporaram mais MM e menos gordura durante a fase de recuperação nutricional.

Os resultados de parâmetros teciduais mostram que a suplementação com leucina não teve efeito no estado protéico hepático após o final de cada fase experimental, considerando-se os mesmos conteúdos e concentrações de proteína, RNA e DNA apresentados pelos animais dos grupos CON e LEU. Todavia, foi observado que os conteúdos de proteína e de RNA no fígado dos animais suplementados não foram alterados durante os dois períodos

experimentais. É necessário enfatizar que enquanto os animais do grupo CON aumentaram os conteúdos de proteína ($p=0,01$) e de RNA ($p=0,04$) hepáticos durante fase de recuperação nutricional, os animais do grupo LEU não alteraram estes valores durante o mesmo período de tempo. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas nestes parâmetros nos grupos CON e LEU, ao final de cada etapa do estudo, notou-se que o valor do conteúdo de proteína no fígado dos animais suplementados foi 9 % maior, após uma semana de restrição alimentar, e 6 % menor, após período de recuperação nutricional. Foi notado, também, que o valor do conteúdo de RNA no fígado destes animais foi 2,5 % maior, após uma semana de restrição alimentar, e 10 % menor, após período de recuperação nutricional. Diante dos fatos, pode ser especulado que a suplementação com leucina, ao “atenuar” a perda do conteúdo de proteína e de RNA no fígado dos animais do grupo LEU, durante o período de restrição alimentar, pode ter amenizado a síntese protéica compensatória no fígado que foi, por sua vez, maior nos animais do grupo CON.

A existência de uma resposta compensatória na síntese protéica hepática tem sido sugerida para explicar o aumento do conteúdo de proteína no fígado, durante período de recuperação nutricional em ratos que foram submetidos anteriormente a períodos que estimulam o catabolismo protéico neste órgão (DOHM *et al.*, 1985; MOSONI *et al.*, 1995). Mosoni *et al.* (1995) observaram aumento do conteúdo de proteína hepática em animais submetidos ao exercício físico durante 4 meses. Estes autores sugerem que uma adaptação dos animais à degradação e resíntese do conteúdo de proteína hepática, ocasionada diariamente pelo exercício e pela alimentação, respectivamente, poderia ser responsável pelo aumento da síntese protéica compensatória e pelo acúmulo de proteína no fígado, que foi verificado após 4 meses de experimento. Vale ser ressaltado que o aumento ocorrido nos conteúdos de proteína e de RNA do fígado dos animais do grupo CON, durante o período de recuperação nutricional, não foi refletido na massa desse órgão. Por outro lado, foi observado que a massa do intestino dos animais suplementados não foi alterada durante os dois períodos experimentais. Neste caso, pode ser especulado que a maior massa do intestino dos animais do grupo CON, verificada após período de recuperação nutricional, em relação à

observada no final da restrição alimentar, pode estar associada ao aumento do conteúdo protéico nesse órgão durante a segunda fase do estudo. Sendo assim, pode ser sugerida a existência de uma resposta compensatória na síntese protéica no intestino dos animais do grupo CON durante período de recuperação nutricional.

A suplementação com leucina também não afetou os conteúdos e concentrações de proteína, RNA e DNA no músculo gastrocnêmio dos animais do grupo LEU após período de restrição alimentar e de recuperação nutricional. Lynch *et al.* (2002) observaram que a suplementação crônica com leucina, durante período de 12 dias, aumentou a taxa de síntese protéica no músculo gastrocnêmio de ratos com ração *ad libitum*. Estes autores observaram, também, que a suplementação não alterou a concentração de RNA neste tecido, atribuindo à maior eficiência do processo de tradução, o efeito encontrado na taxa de síntese protéica. De fato, tem sido verificado que a suplementação, tanto aguda, quanto crônica, de leucina aumenta a taxa de síntese protéica (ANTHONY *et al.*, 2001; LYNCH *et al.*, 2002; KIMBALL & JEFFERSON, 2006). Isto ocorre porque a leucina estimula eventos moleculares, que ainda não são totalmente compreendidos, mas que envolvem a ativação da proteína *mammalian target of rapamycin* (mTOR), que é responsável pelo desencadeamento de uma cascata de reações intracelulares que ativam o processo de tradução protéica (ANTHONY *et al.*, 2001; LYNCH *et al.*, 2002; KIMBALL & JEFFERSON, 2006). Contudo, a repercussão da maior ingestão deste aminoácido no conteúdo de proteína muscular não tem sido avaliada, principalmente, em estudos que verificaram os efeitos da suplementação crônica com leucina (LYNCH *et al.*, 2002; VENTRUCCI *et al.*, 2004). Diante disso, pode ser sugerido que futuros estudos, destinados a avaliar o efeito da suplementação crônica com leucina na atividade de proteínas intracelulares que estimulam o processo de tradução protéica, também deveriam determinar o conteúdo de proteína muscular, permitindo a interpretação do efeito real desta suplementação.

Em relação aos parâmetros plasmáticos, no presente estudo, a suplementação com leucina não alterou a concentração sérica de hormônios que poderiam indicar a existência de um estado predominantemente mais

anabólico (IGF-1) ou menos catabólico (corticosterona) nos animais suplementados. Observou-se, também, que esta suplementação não alterou as concentrações de proteínas séricas (proteínas totais, albumina e globulina) indicadoras do estado nutricional protéico, confirmando os resultados encontrados em relação ao conteúdo protéico da carcaça e de tecidos específicos. A suplementação com leucina não afetou a glicemia dos animais suplementados, porém, aumentou a uremia desses animais após período de recuperação nutricional ($p < 0,01$). Este resultado sugere que a elevada concentração de uréia plasmática nos animais do grupo LEU pode ter sido ocasionada pelo excedente de nitrogênio na ração suplementada ($p = 0,002$), uma vez que o consumo de ração durante período de recuperação nutricional foi o mesmo para os dois grupos avaliados ($p = 0,65$).

A concentração plasmática de uréia pode ser utilizada como parâmetro indicador de proteólise, que se eleva à medida que a degradação protéica aumenta. Contudo, no presente estudo, não existem indícios de que a maior concentração de uréia encontrada nos animais do grupo LEU esteja associada à maior proteólise nestes animais, uma vez que não foi observada diferença significativa na concentração de corticosterona sérica, um hormônio indicador de estado catabólico. Além disso, ressalta-se o fato dos animais do grupo LEU não apresentarem diferença significativa em relação ao conteúdo protéico da carcaça e de tecidos específicos, quando comparado aos animais do grupo CON.

Um aspecto relevante em relação à suplementação utilizada no presente estudo diz respeito à dose de leucina oferecida aos animais suplementados. Alguns autores sugerem que a suplementação apenas com leucina diminui a disponibilidade de isoleucina e valina para síntese protéica, prejudicando este processo (BOLDIZSAR, BOOMAN & BUTTERY, 1973; HARRIS, JOSHI & JEOUNG, 2004; SHIMOMURA *et al.*, 2004). Isto ocorre porque a atividade do complexo enzimático limitante da degradação dos ACR (Ex. desidrogenase de α -cetoácido de cadeia ramificada) é acentuadamente estimulada pelo excesso de leucina ou de seu cetoácido, o α -cetoisocaproato (PAXTON & HARRIS, 1984). No entanto, outros autores não verificaram prejuízo da suplementação com leucina na disponibilidade de isoleucina e valina para síntese protéica (CHOO *et al.*, 1991; LYNCH *et al.*, 2002). Embora, tanto a concentração dos

ACR, quanto a atividade de enzimas do complexo enzimático limitante da degradação dos ACR, não tenham sido determinadas no presente estudo, os resultados sugerem que, mesmo que tenha havido alteração no metabolismo da isoleucina e valina, isso não foi suficiente para alterar os conteúdos de proteína na carcaça, no fígado e no músculo gastrocnêmio dos animais suplementados com leucina. Por outro lado, a dose de leucina na ração suplementada (~ 0,6 % de leucina por kg de ração) ocasionou aumento do consumo diário deste aminoácido em 50 % no grupo LEU, em relação ao grupo CON. Este valor pode ser considerado pequeno, quando comparado a doses utilizadas na maior parte dos estudos que observaram aumento na síntese protéica (PATTI *et al.*, 1998; ANTHONY *et al.*, 2001; LYNCH *et al.*, 2002). Porém, em um trabalho recentemente publicado, observou-se que quantidade equivalente a 10% do consumo diário de leucina foi suficiente para aumentar agudamente a taxa de síntese protéica no músculo gastrocnêmio em ratos, demonstrando que doses pequenas de leucina podem apresentar resultados positivos (CROZIER *et al.*, 2005). Este fato é extremamente relevante, visto a extrapolação desses resultados para humanos e sua possível aplicação clínica.

8. CONCLUSÕES

EXPERIMENTO I

Pode ser sugerido, pelos resultados obtidos, que a suplementação crônica com leucina aumenta a perda de gordura corporal durante restrição alimentar em longo prazo e melhora alguns parâmetros do estado nutricional protéico sem, no entanto, alterar o conteúdo protéico da carcaça e de tecidos específicos de ratos.

EXPERIMENTO II

Os resultados sugerem que a suplementação crônica com leucina não altera a composição corporal e o estado nutricional protéico de ratos durante restrição alimentar em curto prazo e após duas semanas de RN. Sugerem, também, que essa suplementação melhora alguns parâmetros do estado nutricional protéico durante variação de peso corporal.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

AFOLABI, P.R.; JAHOOOR, F.; GIBSON, N.R.; JACKSON, A.A. Response of hepatic proteins to the lowering of habitual dietary protein to the recommended safe level of intake. **American Journal of Physiology**, v.287, p.327-330, 2004.

ANTHONY, J.C.; ANTHONY, T.G.; KIMBALL, S.R.; JEFFERSON, L.S. Signaling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine. **Journal of Nutrition**, v.131, p.856-60, 2001.

BALLOR, D.L.; POEHLMAN, E.T. A meta-analise of the effects of exercise and/or dietary restriction on resting metabolic rate. **European Journal of Applied Physiology**, v.71, p.535-542, 1995.

BALLOR, D.L.; POEHLMAN, E.T. Exercise-training enhances fat-free mass preservation during diet-induced weight loss: a meta-analytical finding. **International Journal of Obesity**, v.18, p.35-40, 1994.

BAXTER, J. Obesity surgery-another unmet need. **Obesity Research**, v.9, p.523-524, 2001.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2002 – 2003. Excesso de peso atinge 38,8 milhões de brasileiros adultos. **Comunicação Social**, 16 de dezembro de 2004. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=278. Acesso em: 22 Dez. 2005.

* As referências bibliográficas estão de acordo com a norma NBR6023/2002 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

BENINI, Z.L.; CAMILLONI, M.A.; SCORDATO, C.; LEZZI, G.; SAVIA, G.; ORIANI, G.; BERTOLI, S.; BALZOLA, F.; LIUZZI, A.; PETRONI, M.L. Contribution of weight cycling to serum leptin in human obesity. **International Journal of Obesity**, v.25, p.721-726, 2001.

BOLDIZSAR, H.K.; BOOMAN, K.N.; BUTTERY, P.J. The effect of excess leucine on valine catabolism in the chick. **British Journal of Nutrition**, v.30, p.501-510, 1973.

BUCHHOLZ, A.C.; SCHOELLER, D.A. Is calorie a calorie? **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.899-906, 2004.

CANNON, D.C.; OLITZKY, I.; INKPEN, J.A. Proteins. In: HENRY, R.J.; CANNON, D.C.; WINKELMAN, J.W., eds. **Clinical chemistry: principles and techniques**. 2.ed. Hagerstown: Haper & How, 1974. p.405-502.

CARLSON, T. Laboratory data in nutrition assessment. In: MAHAN, L.K.; SCOTT-STUMP, S. **Krause's food, nutrition & diet therapy**. 10.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. p.380-398.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Unicamp, 1999. p.37-77, 87-96.

CHANDRA, R.K. Nutrition and the immune system from birth to old age cellular. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.56, p.73S-76S, 2002.

CHOO, P.S.; SMITH, T.K.; CHO, C.Y.; FERGUSON, H.W. Dietary excesses of leucine influence growth and body composition of rainbow trout. **Journal of Nutrition**, v.121, p.1932-1939, 1991.

COMIZIO, R.; PIETROBELLI, A.; TAN, Y.X.; WANG, Z.; WITHERS, R.T.; HEYMSFIELD, S.B.; BOOZER, C.N. Total body lipid and triglyceride response to energy deficit: relevance to body composition models. **American Journal of Physiology**, v.274, p.E860-E866, 1998.

CORTRIGHT, R.N.; CHANDLER, M.P.; LEMON, P.W.R.; DiCARLO, S.E. Daily exercise reduces fat, protein and body mass in male but not female rats. **Physiology & Behavior**, v.62, p.105-111, 1997.

CROZIER, S.J.; KIMBALL, S.R.; EMMERT, S.W.; ANTHONY, J.C.; JEFFERSON, L.S. Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle. **Journal of Nutrition**, v.135, p.376-382, 2005.

DEITEL, M.; SHIKORA, S.A. The development of the surgical treatment of morbid obesity. **Journal of the American College of Nutrition**, v.21, p.365-371, 2002.

DEWIL, E.; DARRAS, V.M.; SPENCER, G.S.; LAUTERIO, T.J.; DECUYPERE, E. The regulation of GH-dependent hormones and enzymes after feed restriction in dwarf and control chickens. **Life Sciences**, v.64, p.1359-1371, 1999.

DISTSCHUNEIT, H.H.; FLECHTNES-MORS, M.; JOHNSON, T.D.; ADLER, G. Metabolic and weight-loss effects of a long-term dietary intervention in obese patients. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p.198-204, 1999.

DOHM, G.L.; KASPEREK, G.J.; TAPSCOTT, E.B.; BARAKAT, H.A. Protein metabolism during endurance exercise. **Federation Proceedings**, v.44, p.348-352, 1985.

DONNELLY, J.E.; PRONK, N.P.; JACOBSEN, D.J.; PRONK, S.J.; JAKICIC, J.M. Effects of a very-low-calorie diet and physical-training regimens on body composition and resting metabolic rate in obese females. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.54, p.56-61, 1991.

DOUMAS, B.T.; WATSON, W.A.; BIGGS, H.G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **Clinica Chimica Acta**, v.31, n.1, p.87-96, 1971.

EISENSTEIN, J.; ROBERTS, S.B.; DALLAL, G.; SALTZMAN, E. High-protein weight-loss diets: are they safe and do they work?: a review of the experimental and epidemiologic data. **Nutrition Reviews**, v.60, p.189-200, 2002.

EXPERT PANEL ON THE IDENTIFICATION, EVOLUTION, AND TREATMENT OF OVERWEIGHT IN ADULTS. Clinical guidelines on the identification, evolution, and treatment of overweight and obesity in adults: executive summary. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.68, p.899-917, 1998.

FARNSWORTH, E.; LUSCOMBE, N.D.; NOAKES, M.; WITTERT, G.; ARGYIOU, E.; CLIFTON, P.M. Effect of a high-protein, energy-restricted diet on body composition, glycemic control, and lipid concentrations in overweight and obese hyperinsulinemic men and women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.78, p.31-39, 2003.

FELGINES, C.; SAVANOVITCH, C.; FARGES, M.C.; CYNOBER, L.; VASSON, M.P. Protein metabolism in rats during long-term dietary restriction: influence of aging. **JPEN, Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.23, p.32-37, 1999.

FIELD, A.E.; AUSTIN, S.B.; TAYLOR, C.B.; MALSPEIS, S.S.M.; ROSNER, B.; ROCKETT, H.R.; GILLMAN, M.W.; COLDITZ, G.A. Relation between dieting and weight change among preadolescents and adolescents. **Pediatrics**, v.112, p.900-906, 2003.

FIELD, A.E.; MANSON, J.E.; TAYLOR, C.B.; WILLETT, W.C.; COLDITZ, G.A. Association of weight change, weight control practices, and weight cycling among women in the Nurses' Health Study II. **International Journal of Obesity**, v.28, p.1134-1142, 2004.

FITEAL, S.M.; MENZIES, R.A.; KAIDO, T.J.; O'GRADY, M.P.; GELDERD, J.B.; HALL, N.R. Effects of exercise on immune functions of undernourished mice. **Life Sciences**, v.51, p.565-574, 1992.

FORBES, G.B. Body fat content influences the body composition response to nutrition and exercise. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.904, p.359-365, 2000.

FORBES, G.B. Lean body mass-body fat interrelationships in humans. **Nutrition Reviews**, v.45, p.225-231, 1987.

FOSTER, G.D.; WADDEN, T.A.; VOGT, R.A.; BREWER, G. What is a reasonable weight loss?: patients' expectations and evaluations of obesity treatment outcomes. **Journal of Consulting and Clinical Psychology**, v.65, p.79-85, 1997.

FRIEDMAN, J.M. Obesity in the new millennium. **Nature**, v.404, p.632-634, 2000.

FUJIOKA, K. Management of obesity as a chronic disease: nonpharmacologic, pharmacologic, and Surgical options. **Obesity Research**, v.10, p.116S-123S, 2002.

GARROW, J.S.; SUMMERBELL, C.D. Meta-analysis: effect of exercise, with or without dieting, on the body composition of overweight subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.49, p.1-10, 1995.

GENDIMENICO, G.J.; BOUQUIN, P.L.; TRAMPOSCH, K.M. Diphenylamine-colorimetric method for DNA assay: a shortened procedure by incubating samples at 50 degrees °C. **Analytical Biochemistry**, v.173, p.45-48, 1988.

HALTON, T.L.; HU, F.B. The effects of high protein diets on thermogenesis, satiety and weight loss: a critical review. **Journal of the American College of Nutrition**, v.23, p.373-385, 2004.

HARRIS, R.A.; JOSHI, M.; JEOUNG, N.H. Mechanisms responsible for regulation of branched-chain amino acid catabolism. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.313, p.391-396, 2004.

HEITMANN, B.L.; GARBY, L. Composition (lean and fat tissue) of weight changes in adult danes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.75, p.840-847, 2002.

HEITMANN, B.L.; GARBY, L. Composition of body weight differences in subjects with the same body height. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.52, p.619-620, 1998.

HEYMSFIELD, S.B.; CASPER, K.; HEARN, J.; GUY, D. Rate of weight loss. During underfeeding: relation to level of physical activity. **Metabolism**, v.38, p.215-223, 1989.

HEYWARD, V.H. Evaluation of body composition. **Sports Medicine**, v.22, p.146-156, 1996.

HILL, J.O.; SPARLING, P.B.; SHIELDS, T.W.; HELLER, P.A. Effects of exercise and food restriction on body composition and metabolic rate in obese women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.46, p.622-630, 1987.

HORTON, T.I.; HILL, J.O. Exercise and obesity. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.57, p.85-91, 1998.

JACOBSON, B.H. Effect of amino acids on growth hormone release. **Physician and SportsMedicine**, v.18, p.63-70, 1990.

JOHNSTON, C.S.; TJONN, S.L.; SWAN, P.D. High-protein, low-fat diets are effective for weight loss and favorably alter biomarkers in healthy adults. **Journal of Nutrition**, v.134, p.586-591, 2004.

JÓWKO, E.; OSTASZEWSKI, P.; JANK, M.; SACHARUK, J.; ZIENIEWICZ, A.; WILCZAK, J.; NISSEN, S. Creatine and β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program. **Nutrition**, v.17, n.7/8, p.558-566, 2001.

KAJIOKA, T.; TSUZUCA, S.; SHIMOKATA, H.; SATO, Y. Effects of intentional weight cycling on non-obese young women. **Metabolism**, v.51, p.149-154, 2002.

KATZEFF, H.L.; OJAMAA, K.M.; KLEIN, I. The effects of long-term aerobic exercise and energy restriction on protein synthesis. **Metabolism**, v.44, p.188-192, 1995.

KIMBALL, S.R.; JEFFERSON, L.S. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis. **Journal of Nutrition**, v.136, p.227S-231S, 2006.

KOPELMAN, P.G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v.404, p.635-643, 2000.

KOUTKIA, P.; CANAVAN, B.; JOHNSON, M.L.; DEPAOLI, A.; GRINSPOON, S. Characterization of leptin pulse dynamics and relationship to fat mass, growth hormone, cortisol, and insulin. **American Journal of Physiology**, v.285, n.2, pt.1, p.372E-379E, 2003.

KRAEMER, W.T.; VOLEK, J.S.; CLARK, K.L.; GORDON, S.E.; PUHL, S.M.; KOZISIS, L.P.; MCBRIDE, J.M.; TRIPLETT-MCBRIDE, N.T.; PUTUKIAN, M.; NEWTON, R.V.; HAKKINEN, K.; BUSH, J.A.; SEBASTIANELLI, W.J. Influence of exercise training on physiological and performance changes with weight loss in men. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.21, p.1320-1329, 1999.

KRAL, J.G. Selection of patients for anti-obesity surgery. **International Journal of Obesity**, v.25, p.107S-112S, 2001.

KROKE, A.; LIESE, A.D.; SCHLZ, M.; BERGMANN, M.M.; KLIPSTEIN-GROBUSCH, K.; HOFFMANN, K.; BOEING, H. Recent weight changes and weight cycling as predictors of subsequent two year weight change in a middle-aged cohort. **International Journal of Obesity**, v.26, p.403-409, 2002.

LABIB, M. The investigation and management of obesity. **Journal of Clinical Pathology**, v.56, p.17-25, 2003.

LACROIX, M.; GAUDICHON, C.; MARTIN, A.; MORENS, C.; MATHÉ, V.; TOMÉ, D.; HUNEAU, J.F. A long-term high-protein diet markedly reduces adipose tissue without major side effects in Wistar male rats. **American Journal of Physiology**, v.287, n.4, pt.2, p.934R-942R, 2004.

LAYMAN, D.K.; BAUM, J.I. Dietary protein impact on glycemic control during weight loss. **Journal of Nutrition**, v.134, p.968-973, 2004.

LAYMAN, D.K.; BOILEAU, R.A.; ERICKSON, D.J.; PAINTER, J.E.; SHIUE, H.; SATHER, C.; CHRISTOU, D.D. A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body composition and blood lipid profiles during weight loss in adult women. **Journal of Nutrition**, v.133, p.411-417, 2003.

LAYMAN, D.K.; EVANS, E.; BAUM, J.I.; SEYLER, J.; ERICKSON, D.J.; BOILEAU, R.A. Dietary protein and exercise have additive effects on body composition during weight loss in adult women. **Journal of Nutrition**, v.135, p.1903-1910, 2005.

LAYMAN, K.L.; WALTER, D.A. Potential importance of leucine in treatment of obesity and the metabolic syndrome. **Journal of Nutrition**, v.136, p.319S-323S, 2006.

LEIBEL, R.L.; ROSENBAUM, M.; HIRSCH, J. Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. **New England Journal of Medicine**, v.332, p.621-628, 1995.

LOWRY, D.H.; ROSEBROUGH, J.N.; FARR, A.L.; RANDAL, R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, p.266-275, 1951.

LYNCH, C.J.; HUTSON, S.M.; PATSON, B.J.; VAVAL, A.; VARY, T.C. Tissue-specific effects of chronic dietary leucine and norleucine supplementation on protein synthesis in rats. **American Journal of Physiology**, v.283, n.4, pt.1, p.824E-835E, 2002.

LYNCH, C.J.; PATSON, B.J.; ANTHONY, J.; VAVAL, A.; JEFFERSON, L.S.; VARY, T.C. Leucine is a direct-acting nutrient signal that regulates protein synthesis in adipose tissue. **American Journal of Physiology**, v.283, n.3, pt.1, p.503E-513E, 2002.

MAFFEI, M.; HALAAS, J.; RAVUSSIN, E.; PRATLEY, R.E.; LEE, G.H.; ZHANG, Y.; FEI, H.; KIM, S.; LALLONE, R.; RANGANATHAN, S.; KERN, P.A.; FRIEDMAN, J.M. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature Medicine**, v.1, n.11, p.1155-1161, 1995.

MANSON, J.; WILLETT, W.; STAMPLER, M.; COLDITZ, G.A.; HUNTER, D.J.; HANKINSON, S.E.; HENNEKENS, C.H.; SPEIZER, F.E. Body weight and mortality among women. **New England Journal of Medicine**, v.333, p.677-685, 1995.

MARKS, B.L.; RIPPE, J.M. The importance of fat free mass maintenance in weight loss programmes. **Sports Medicine**, v.22, p.273-281, 1996.

MARKS, B.L.; WARD, A.; MORRIS, D.H.; CASTELLANI, J.; RIPPE, J.M. Fat-free mass is maintained in women following a moderate diet and exercise program. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.27, p.1243-1251, 1995.

MARSHALL, W.J. The liver. In: _____. **Clinical chemistry**. 4.ed. Edinburgh, New York: Mosby, 2000. p.77-93.

MAXWELL, A.; BUTTERWIK, R.; BATT, R.M.; CAMACHO-HÜBNER, C. Serum insulin-like growth factor (IGF-1) concentrations are reduced by short-term dietary restriction and restored by refeeding in domestic cats (*felis catus*). **Journal of Nutrition**, v.129, p.1879-1884, 1999.

MEIJER, A.J. Amino acids as regulators and components of nonproteinogenic pathways. **Journal of Nutrition**, v.133, p.2057-2062, 2003.

MILLWARD, D.J.; NNANYELUGO, D.O.; JAMES, W.P.T.; GARLICK, P.J. Protein metabolism in skeletal muscle: the effect of feeding and fasting on muscle RNA, free amino acids and plasma insulin concentrations. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.127-142, 1974.

MILLWARD, D.J.; WATERLOW, J.C. Effect of nutrition on protein turnover in skeletal muscle. **Federation Proceedings**, v.37, p.2283-2290, 1978.

MOSONI, L.; VALLUY, M.C.; SERRURIER, B.; PRUGNAUD, J.; OBLED, C.; GUEZENNEC, C.Y.; PATUREAU MIRAND, P. Altered response of protein synthesis to nutritional state and endurance training in old rats. **American Journal of Physiology**, v.268, n.2, pt.1, p.328E–335E, 1995.

MOURIER, A.; BIGARD, A.X.; KERVILER, E.; ROGER, B.; LEGRAND, H.; GUEZENNEC, C.Y. Combined effects of caloric restriction and branched-chain amino acid supplementation on body composition and exercise performance in elite wrestlers. **International Journal of Sports Medicine**, v.18. p.47-55, 1997.

MOURIER, A.; GAUTIER, J.F.; KERVILER, E.; BIGARD, A.X.; VILLETTE, J.M.; GARNIER, J.P.; DUVALLET, A.; GUEZENNEC, C.Y.; CATHELINEAU, G. Mobilization of visceral adipose tissue related to the improvement in insulin sensitivity in response to physical training in NIDDM: effects of branched-chain amino acid supplements. **Diabetes Care**, v.20, p.385-391, 1997.

MUNRO, N.N.; FLECK, A. The determination of nucleic acids. **Methods of Biochemical Analysis**, v.14, p.113-176, 1966.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: the evidence report. **Obesity Research**, v.6, p.51S-210S, 1998.

NIEMAN, D.C.; HAIG, J.L.; DE GUIA, E.D.; DIZON, G.P.; REGISTER, U.D. Reducing diet and exercise training effects on resting metabolic rates in mildly obese women. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v.28, p.79-88, 1988.

NIEMAN, D.C.; NEHLSSEN-CONNORELLA, S.L.; HENSON, D.A.; BUTTERWORTH, D.E.; FAGOAGA, O.R.; UTTER, A. Immune response to obesity and moderate weight loss. **International Journal of Obesity**, v.20, p.353-360, 1996.

NIEMAN, D.C.; NEHLSSEN-CONNORELLA, S.L.; HENSON, D.A.; KOCH, A.J.; BUTTERWORTH, D.E.; FAGOAGA, O.R.; UTTER, A. Immune response to exercise training and/or energy restriction in obese women. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.30, p.679-686, 1998.

NOAKES, M.; KEOGH, J.B.; FOSTER, P.R.; CLIFTON, P.M. Effect of an energy-restricted, high-protein, low-fat diet relative to a conventional high-carbohydrate, low-fat diet on weight loss, body composition, nutrition status, and markers of cardiovascular health in obese women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.1298-1306, 2005.

O'CONNELL, T.L. An overview of obesity and weight loss surgery. **Clinical Diabetes**, v.22, p.115-120, 2004.

PATTI, M.E.; BRAMBILLA, E.; LUZI, L.; LANDAKER, E.J.; KAHN, C.R. Bidirectional modulation of insulin action by amino acids. **Journal of Clinical Investigation**, v.101, p.1519-1529, 1998.

PAXTON, R.; HARRIS, R.A. Regulation of branched-chain α -ketoacid dehydrogenase kinase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.231, p.48-57, 1984.

PEDROSA, R.G.; TIRAPEGUI, J.; ROGERO, M.M.; CASTRO, I.A.; PIRES, I.S.O.; OLIVEIRA, A.A.M. Influência do exercício físico na composição química da massa corporal magra de ratos submetidos à restrição alimentar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.40, p.27-34, 2004.

PEDROSA, R.G.; TIRAPEGUI, J.; ROGERO, M.M.; CASTRO, I.A.; PIRES, I.S.O.; SALGADO, M.M.; UEDA, M. Assessment of the nutritional status of rats submitted to food restriction and/or to physical exercise. **Nutrition Research**, v.24, p.923-934, 2004.

PELLEYMOUNTER, M.A.; CULLEN, M.J.; BAKER, M.B.; HECHT, R.; WINTERS, D.; BOONE, T.; COLLINS, F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. **Science**, v.269, n.5223, p.540-543, 1995.

PI-SUNYER, F.X. Obesity: criteria and classification. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.59, p.505-509, 2000. (Symposium on 'Body weight regulation and obesity: metabolic and clinical aspects' 1st Plenary Session: 'Obesity').

POEHLMAN, E.T.; HORTON, E.S. The impact of food intake and exercise on energy expenditure. **Nutrition Reviews**, v.47, p.129-137, 1989.

POPKIN, B.M. The nutrition transition and obesity in the developing world. **Journal of Nutrition**, v.131, p.871S-873S, 2001.

PRENTICE, A.M.; GOLDBERG, G.R.; JEBB, A.S.; TEBB, A.S.; BLACK, A.E.; MURGATROYD, P.R. Physiological responses to slimming. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.50, p.441-458, 1991.

REEVES, P.G. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. **Journal of Nutrition**, v.127, suppl.5, p.838S-841S, 1997.

ROBINSON, S.M.; JACCARD, C.; PERSAUD, C.; JACKSON, A.A.; JEQUIER, E.; SCHUTZ, Y. Protein turnover and thermogenesis in response to high-protein and high-carbohydrate feeding in men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.52, n.1, p.72-80, 1990.

RODIN, J.; RADKE-SHARPE, N.; REBUFFÉ-SCRIVE, M.; GREENWOOD, M.R.C. Weight cycling and fat distribution. **International Journal of Obesity**, v.14, p.303-310, 1990.

ROH, C.; HAN, J.; TZATSOS, A.; KANDROR, K.V. Nutrient-sensing mTOR-mediated pathway regulates leptin production in isolated rat adipocytes. **American Journal of Physiology**, v.284, n.2, pt.1, p.322E-330E, 2003.

ROSS, R.; RISSANEN, J. Mobilization of visceral and subcutaneous adipose tissue in response to energy restriction and exercise. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.60, p.695-703, 1994.

ROUBENOFF, R.; KEHAYIAS, J.J. The measurement of lean body mass. **Nutrition Reviews**, v.49, p.163-174, 1991.

SCANGA, C.B.; VERDE, T.J.; PAOLONE, A.M.; ANDERSEN, A.J.; WADDEN, T.A. Effects of weight loss and exercise training on natural killer cell activity in obese women. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.30, p.1666-1671, 1998.

SHEPETH, P.S.; WATRASIEWICZ, K.; JUNG, R.T.; JAMES, W.P. The effects of protein and energy restriction on plasma transport proteins. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.38, p.56, 1979.

SHIMOMURA, Y.; MURAKAMI, T.; NAKAI, N.; NAGASAKI, M.; HARRIS, R.A. Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. **Journal of Nutrition**, v.134, p.1583-1587, 2004.

SKOV, A.R.; TOUBRO, S.; RONN, B.; HOLM, L.; ASTRUP, A. Randomized trial on protein vs carbohydrate in ad libitum fat reduced diet for the treatment of obesity. **International Journal of Obesity**, v.23, p.558-536, 1999.

SMITH, W.J.; UNDERWOOD, L.E.; CLEMMONS, D.R. Effects of caloric or protein restriction on insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-binding proteins in children and adults. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.80, p.443-449, 1995.

STALLONE, D.D. The influence of obesity and its treatment on the immune system. **Nutrition Reviews**, v.52, p.37-50, 1994.

STATISTICA for Windows. Version 7.1. Tulsa (OK): StatSoft Inc.

STEIN, T.P.; SCHLUTER, M.D.; LESKIW, M.J.; BODEN, G. Attenuation of the protein wasting associated with bed rest by branched-chain amino acids. **Nutrition**, v.15, p.656-660, 1999.

STEIN, T.P.; DONALDSON, M.R.; LESKIW, M.J.; SCHLUTER, M.D.; BAGGETT, D.W.; BODEN, G. Branched-chain amino acid supplementation during bed rest: effect on recovery. **Journal Applied Physiology**, v.94 p.1345-1352, 2003.

TOM, A.; NAIR, K.S. Assessment of branched-chain amino acid status and potential for biomarkers. **Journal of Nutrition**, v.136, p.324S-330S, 2006.

TSAI, A.C.; SANDRETTO, A.; CHUNG, Y. Dieting is more effective in reducing weight but exercise is more effective in reducing fat during the early phase of a weight-reducing program in healthy humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.14, p.541-549, 2003.

UAUY, R.; AIBALA, C.; KAIN, J. Obesity trends in Latin America: transiting from under-to overweight. **Journal of Nutrition**, v.131, p.893S-899S, 2001.

VAN DALE, D.; SARIS, W.H.M.; TEN HOOR, F. Weight maintenance and resting metabolic rate 18-40 months after a diet/exercise treatment. **International Journal of Obesity** v.14, p.347-359, 1990.

VAN GEMERT, W.G.; WESTERTERP, K.R.; VAN ACKER, B.A.C.; WAGENMAKERS, A.J.M.; HALLIDAY, D.; GREVE, J.M.; SOETERS, P.B. Energy, substrate and protein metabolism in morbid obesity before, during and after massive weight loss. **International Journal of Obesity**, v.24, p.711-718, 2000.

VANHELDER, W.P.; RADOMSKI, M.W.; GOODE, R.C. Growth hormone responses during intermittent weight lifting exercise in men. **European Journal of Applied Physiology**, v.53, p.31-34, 1984.

VÁZQUEZ, C.; MOREJÓN, E.; MUÑOZ, C.; LÓPEZ, Y.; Balsa, J.; KONING, M.A.; MALDONADO, A.; GARCIA, G.; PEROMINGO, R.; FRESNEDA, V. Repercusión nutricional de la cirugía bariátrica según técnica de scopinaro: análisis de 40 casos. **Nutrición Hospitalaria**, v.18, p.189-193, 2003.

VENTRUCCHI, G.; SILVA, L.G.R.; MELLO, M.A.R.; MARCONDES, M.C.G. Effects of a leucine-rich diet on body composition during nutritional recovery in rats. **Nutrition**, v.20, p.213-217, 2004.

VOTRUBA, S.B.; HORVITZ, M.A.; SCHOELLER, D.A. The role of exercise in the treatment of obesity. **Nutrition**, v.16, p.179-188, 2000.

WALLNER, S.J.; LUSCHNIGG, N.; SCHNEDL, W.J.; LAHOUSEN, T.; SUDI, K.; MÖLLER, R.; TAFEIT, E.; HOREJSI, R. Body fat distribution of overweight females with a history of weight cycling. **International Journal of Obesity**, v.28, p.1143-1148, 2004.

WANG, Z.; PIERSON, R.N.; HEYMSFIELD, S.B. The five-level model: a new approach to organizing body-composition research. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.56, p.19-28, 1992.

WEINSIER, R.L.; BRACCO, D.; SCHUTZ, Y. Predicted effects of small decreases in energy expenditure on weight gain adult women. **International Journal of Obesity**, v.17, p.693-700, 1993.

WESTERTERP, K.R.; WILSON, S.A.J.; ROLLAND, V. Diet induced thermogenesis over 24 h in a respiration chamber: effect of diet composition. **International Journal of Obesity**, v.23, p.287-292, 1999.

WESTERTERP-PLANTENGA, M.S.; LEJEUNE, M.P.; NIJS, I.; OOIJEN, M.; KOVACS, E.M. High protein intake sustains weight maintenance after body weight loss in humans. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v.281, p.57-64, 2004.

YOSHIZAWA, F. Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids *in vivo*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.313, p.417-422, 2004.

ZEMEL, M.B. Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.907S-912S, 2004.

ZIZZA, C.A.; HERRING, A.H.; STEVENS, J.; CAREY, T.S. Bariatric surgeries in north carolina, 1990 to 2001: a gender comparison. **Obesity Research**, v.11, p.1519-1525, 2003.

ANEXOS

Anexo 1. Certificado da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA)

Anexo 2. Composição das rações

Anexo 3. Aminograma da caseína

Anexo 4. Informações para os Membros de Banca Julgadora de Mestrado/Doutorado

Anexo 5. Ficha do aluno

Anexo 6. Currículo *Lattes*

CEEAA nº 34/2005

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Comissão de Ética em Experimentação Animal

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto “Efeito da suplementação crônica de leucina em ratos submetidos à restrição alimentar e período de recuperação nutricional ” (Protocolo CEEA nº82), sob a responsabilidade do(a) Sr(a). Rogério Graça Pedrosa e do orientador(a) Júlio Orlando Tirapegui Toledo, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) desta Faculdade, em 01/08/2005.

São Paulo, 01 de agosto de 2005.

*Profª. Associada Elfriede Marianne Bacchi
Coordenadora da CEEAA*

Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Fone: (11) 3091-3677 / Fax: (11) 3813-5093 - e-mail: rtrigo@usp.br

Tabela 1. Composição das rações utilizadas nos experimentos (AIN-93M e AIN-93M modificada) (REEVES, 1997)

Ingredientes	AIN-93M	AIN-93M modificada
	Gramas por cada kg de ração	
Amido	620,692	614,782*
Sacarose	100	100
Caseína	140	140
Óleo de Soja	40	40
Celulose	50	50
Mistura Salina	35	35
Mistura Vitamínica	10	10
L-Cistina	1,8	1,8
Bitartarato de Colina	2,5	2,5
Tetrabutylhidroquinona	0,008	0,008
L-Leucina		5,91

* Foram substituídos 5,91 g de amido por L-leucina purificada para cada quilograma de ração preparada.

Tabela 2. Aminograma da caseína utilizada na preparação das rações para os experimentos I e II*

Componente	g/100g.caseína	g/kg.ração
Conteúdo protéico bruto	86,710	121,394
Aminoácidos		
Lisina	6,901	9,661
Treonina	3,717	5,204
Metionina	2,246	3,144
Cistina	0,432	0,605
Metionina + Cistina	2,677	3,748
Alanina	2,741	3,837
Arginina	2,966	4,152
Ácido Aspártico	6,279	8,791
Ácido Glutâmico	18,894	26,452
Glicina	1,680	2,352
Histidina	2,251	3,151
Isoleucina	4,251	5,951
Leucina	8,442	11,819
Fenilalanina	4,304	6,026
Serina	4,887	6,842
Tirosina	4,828	6,759
Valina	5,511	7,715

* Fonte: Ajinomoto do Brasil

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Secretaria de Pós-Graduação

**Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de
Mestrado/Doutorado**

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.
2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.
 - 2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.
3. A sessão de defesa será aberta ao público.
4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.
 - 4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.
 - 4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.
5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 18 de março de 2005.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco
Presidente da CPG/FCF/USP

Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Fone: (11) 3091 3621 - Fax (11) 3091 3141 - e-mail: pgfarma@usp.br

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Janus

FICHA DO ALUNO

9132 - 3081956/2 - Rogerio Graça Pedrosa

Email: rogergp@usp.br
Data de Nascimento: 12/06/1971
Cédula de Identidade: RG - 1.150.429 - ES
Local de Nascimento: Estado do Espírito Santo
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Nutricionista - Escola de Nutrição - Universidade Federal de Ouro Preto - Minas Gerais - Brasil - 1996
Mestrado: Mestre em Ciência dos Alimentos - Área: Nutrição Experimental - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2002

Curso: Doutorado
Programa: Ciência dos Alimentos
Área: Nutrição Experimental
Data de Matrícula: 25/11/2002
Início da Contagem de Prazo: 25/11/2002
Data Limite: 25/03/2007
Orientador(es): Prof(a). Dr(a). Julio Orlando Tirapegui Toledo - 25/11/2002 a 28/06/2007 E.Mail: tirapegu@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 03/05/2005
Prorrogação: 120 dias
Período de 25/11/2006 a 25/03/2007
Data de aprovação no exame de qualificação: Aprovado em 18/05/2006
Data do Depósito do Trabalho: 22/03/2007
Título do Trabalho: "Efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado protéico de ratos submetidos à restrição alimentar e a período de recuperação nutricional"
Data máxima para aprovação da Banca: 21/05/2007
Data de Aprovação da Banca: 26/04/2007
Data Máxima para Defesa: 25/07/2007
Data da Defesa: 28/06/2007
Resultado da Defesa: Aprovado

Situação Atual: Conclusão em 28/06/2007

Impresso em: 30/08/2007 - 18:26:54

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Janus

FICHA DO ALUNO

9132 - 3081956/2 - Rogerio Graça Pedrosa

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Sit. Matric.
HEP5732-7/7	Bioestatística I (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	11/03/2003	14/04/2003	30	0	0.0	-	N	Pré-matrícula indeferida
ICB5711-1/2	Redação de Trabalhos Científicos (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	11/03/2003	24/03/2003	30	0	0.0	-	N	Pré-matrícula indeferida
HEP5750-1/7	Bioestatística II (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	08/04/2003	22/05/2003	45	0	0.0	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBA5729-2/1	Nutrição e Metabolismo na Atividade Física	04/08/2003	07/09/2003	75	5	100.0	A	N	Concluída
HNT5725-1/1	Recomendações de Energia e Nutrientes (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	09/09/2003	28/10/2003	60	4	100.0	B	N	Concluída
FBA5862-5/4	Aspectos Atuais do Metabolismo de Lípidos	03/11/2003	07/12/2003	45	3	100.0	A	N	Concluída
FBA5724-3/1	Nutrição Experimental II	01/03/2004	11/04/2004	90	6	100.0	A	N	Concluída
Atividade do Programa	Trabalho publicado na Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, com o título "Aspectos atuais da regulação do peso corporal: ação da leptina no desequilíbrio energético", v. 40, n. 3, p. 273-287, 2004, São Paulo, Brasil	01/07/2004	30/09/2004	-	4	0.0	-	-	-

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para Exame de Qualificação	Para Depósito de Tese	
Disciplinas:	20	20	22
Atividades Programadas:			
Seminários:			
Estágios:			
Total:	20	20	22

Créditos Atribuídos à Tese: 76

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Situação Atual: Conclusão em 28/06/2007

Impresso em: 30/08/2007 - 18:26:54

Rogério Graça Pedrosa

possui graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Ouro Preto (1996), mestrado em Ciência dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (2002) e doutorado em Ciência dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (2007). Tem experiência na área de Nutrição, com ênfase em Nutrição, atuando principalmente nos seguintes temas: obesidade, body composition, amino acid, avaliação nutricional e weight loss.

(Texto gerado automaticamente pelo Sistema Lattes)
Última atualização em 27/08/2007

Endereço para acessar este CV:
<http://lattes.cnpq.br/2133196585575321>

Dados Pessoais

Nome	Rogério Graça Pedrosa
Nascimento	12/06/1971 - Vitória/ES - Brasil
CPF	02281200710

Formação Acadêmica/Titulação

2002 - 2007	Doutorado em Ciência dos Alimentos. Universidade de São Paulo, USP, Brasil Título: Efeito da suplementação crônica com leucina na composição corporal e no estado protéico de ratos submetidos à restrição alimentar e a período de recuperação nutricional, Ano de obtenção: 2007 Orientador: Julio Orlando Tirapegui Toledo Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
1999 - 2002	Mestrado em Ciência dos Alimentos. Universidade de São Paulo, USP, Brasil Título: Avaliação do estado nutricional de ratos submetidos a restrição alimentar e a exercício físico, Ano de obtenção: 2002 Orientador: Julio Orlando Tirapegui Toledo Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
1991 - 1996	Graduação em Nutrição. Universidade Federal de Ouro Preto, UFOP, Ouro Preto, Brasil

Produção em C, T & A

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

- [doi>](#) José Donato Jr., PEDROSA, R. G., Jonas A. de Araújo Jr., Ivanir Santana de Oliveira Pires, TIRAPEGUI, J.
1. Effects of leucine and phenylalanine supplementation during intermittent periods of food restriction and refeeding in adult rats. *Life Sciences.* , v.81, p.31 - 39, 2007.

ROGERO, M., TIRAPEGUI, J., PEDROSA, R. G., Inar Alves de Castro, Ivanir Santana de Oliveira Pires
 2. Effect of alanyl-glutamine supplementation on plasma and tissue glutamine concentrations in rats submitted to exhaustive exercise. *Nutrition.* , v.22, p.564 - 571, 2006.

[doi>](#) Jonas A. de Araújo Jr., FALAVIGNA, G., ROGERO, M., Ivanir Santana de Oliveira Pires, PEDROSA, R. G., Inar Alves de Castro, José Donato Jr., TIRAPEGUI, J.
 3. 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, p.1343 - 1348, 2006.

José Donato Jr., PEDROSA, R. G., CRUZAT, V. F., Ivanir Santana de Oliveira Pires, TIRAPEGUI, J.
 4. Effects of leucine supplementation on the body composition and protein status of rats submitted to food restriction. *Nutrition.* , v.22, p.520 - 527, 2006.

José Donato Jr., PEDROSA, R. G., TIRAPEGUI, J.
 5. Aspectos atuais da regulação do peso corporal: ação da leptina no desequilíbrio energético. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* , v.40, p.273 - 287, 2004.

PEDROSA, R. G., TIRAPEGUI, J., ROGERO, M., Ivanir Santana de Oliveira Pires, Inar Alves de Castro, SALGADO, M., UEDA, M.
 6. Assessment of the nutritional status of rats submitted to food restriction and/or to physical exercise. *Nutrition Research.* , v.24, p.923 - 934, 2004.

PEDROSA, R. G., TIRAPEGUI, J., ROGERO, M., Inar Alves de Castro, Ivanir Santana de Oliveira Pires, Antônio Altair Magalhães de Oliveira
 7. Influência do exercício físico na composição química da massa corporal magra de ratos submetidos à restrição alimentar. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* , v.40, p.27 - 34, 2004.

ROGERO, M., TIRAPEGUI, J., PEDROSA, R. G., Ivanir Santana de Oliveira Pires, Inar Alves de Castro
 8. Plasma and tissue glutamine response to acute and chronic supplementation with L-glutamine and L-alanyl-L-glutamine in rats. *Nutrition Research.* , v.24, p.261 - 270, 2004.

ROGERO, M., TIRAPEGUI, J., PEDROSA, R. G., CASTRO, I., PIRES, I., OLIVEIRA, A., SALGADO, M., PINTO, A., UEDA, M.
 9. Efeito da suplementação com L-alanil-L-glutamina sobre a resposta de hipersensibilidade do tipo tardio em ratos submetidos ao treinamento intenso.

Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. , v.38, p.487 - 497, 2002.

Capítulos de livros publicados

- PEDROSA, R. G., José Donato Jr., Jonas A. de Araújo Jr., TIRAPEGUI, J.
1. Gasto Energético, Fatores Determinantes e Mensuração In: Fisiologia Da Nutrição Humana: aspectos básicos, aplicados e funcionais.1 ed.São Paulo : Atheneu, 2007, v.1, p. 19-33.

- José Donato Jr., PEDROSA, R. G., RIBEIRO, S. M. L., TIRAPEGUI, J.
2. Obesidade In: Nutrição:fundamentos e aspectos atuais.2 ed.São Paulo : Atheneu, 2006, v.1, p. 299-316.

- PEDROSA, R. G., FALAVIGNA, G., NARDO JUNIOR, N., TIRAPEGUI, J.
3. Avaliação da composição corporal de atletas In: Nutrição, Metabolismo e Suplementação na atividade Física.1 ed.São Paulo : Atheneu, 2005, v.1, p. 97-105.

Comunicações e Resumos Publicados em Anais de Congressos ou Periódicos (resumo)

- PEDROSA, R. G., José Donato Jr., Ivanir Santana de Oliveira Pires, ROGERO, M., Jonas A. de Araújo Jr., TIRAPEGUI, J.
1. Effect of the chronic supplementation with leucine on the nutritional protein status of rats submitted to dietary restriction followed by a period of dietary recovery. In: 10th European Nutrition Conference, 2007, Paris. 10th European Nutrition Conference, 2007
.. , 2007.

- José Donato Jr., PEDROSA, R. G., CRUZAT, V. F., Ivanir Santana de Oliveira Pires, TIRAPEGUI, J.
2. Effects of Chronic L-leucine supplementation on the Body Composition of Rats During Food Restriction In: 18 International Congress of Nutrition. Nutrition Safari For Innovative Solutions, 2005, Durban.
Annals of Nutrition & Metabolism. , 2005. v.18. p.286 - 286

- PEDROSA, R. G., José Donato Jr., CRUZAT, V. F., Ivanir Santana de Oliveira Pires, TIRAPEGUI, J.
3. Effects of Chronic L-leucine Supplementation on the protein status of rats during food restriction In: 18 International Congress of Nutrition. Nutrition Safari For Innovative Solutions, 2005, Durban.
Annals of Nutrition & Metabolism. , 2005. v.18. p.286 - 286

- CHAVES, E. M. G., PEDROSA, R. G., ROGERO, M., José Donato Jr., TIRAPEGUI, J.
4. Effects of supplementation with the microalga chlorella pyrenoidosa on the lipid profile of dyslipidemic women In: 18 International Congress of Nutrition Safari For Innovative Solutions, Durban.
Annals of Nutrition & Metabolism. , 2005. v.18. p.200 - 200

5. PEDROSA, R. G., José Donato Jr., ROGERO, M., ARAUJO JUNIOR, J., TIRAPEGUI, J.
Visceral protein status in rats submitted to physical exercise and food restriction In: 10 Annual Congress of European College of Sport Science, 2005, Belgrade.
European College of Sport Science. Belgrade: , 2005. p.356 - 356

PEDROSA, R. G., ROGERO, M., José Donato Jr., Jonas A. de Araújo Jr., TIRAPEGUI, J.
6. Efeito da restrição alimentar e do exercício físico no estado protéico visceral In: XIX Seminário de Pós-Graduação, 2004, São Paulo.
Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. , 2004.

TIRAPEGUI, J., Jonas A. de Araújo Jr., ROGERO, M., PEDROSA, R. G., Ivanir Santana de Oliveira Pires, José Donato Jr.
"Effects Of Supplementation With Branched Chain Amino Acids On Fatigue In Rats Subjected To Swimming" In: AMERICAN COLLEGE of SPORTS MEDICINE, 2004, Indianapolis.
MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE. Lippincott Williams & Wilkins, 2004. v.36. p.S17 -

José Donato Jr., Jonas A. de Araújo Jr., PEDROSA, R. G., Ivanir Santana de Oliveira Pires, ROGERO, M., TIRAPEGUI, J.
8. "Effects of Weight Cycling on Food Efficiency and Metabolic Parameters in Rats" In: AMERICAN COLLEGE of SPORTS MEDICINE, 2004, Indianapolis.
MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE. Lippincott Williams & Wilkins, 2004. v.36. p.S80 -

PEDROSA, R. G., TIRAPEGUI, J., ROGERO, M., SALGADO, M., UEDA, M.
9. "Avaliação do estado nutricional de ratos submetidos à restrição alimentar e/ou exercício físico" In: XIII Congreso Latinoamericano de Nutrición, 2003, Acapulco.
LIBRO DE MEMORIAS. Argiletum Editores, 2003. p.221 -

TIRAPEGUI, J., PEDROSA, R. G., ROGERO, M., Inar Alves de Castro, OLIVEIRA, A., OLIVEIRA, A. A. M.
10. "Influência do exercício físico na composição da massa magra de ratos submetidos à restrição alimentar" In: XIII Congreso Latinoamericano de Nutrición, 2003, Acapulco.
LIBRO DE MEMORIAS. Argiletum Editores, 2003. p.230 -

PEDROSA, R. G., ROGERO, M., PINTO, A., CASTRO, I., TIRAPEGUI, J.
11. "Effects of Energy Restriction and/or Exercise Training on Delayed-type Hipersensitivity in Rats" In: 17th International Congress of Nutrition, 2001, Vienna.
Annals of Nutrition & Metabolism. Vienna: Karger, 2001. v.45. p.1 - 604

12. ROGERO, M., TIRAPEGUI, J., PEDROSA, R. G.
"Effects of Glutamin Supplementation on Glycogen Resynthesis During Recovery Period After Intense and Prolonged Exercise in Rats" In: 17 th International Congress of Nutrition, 2001, Vienna.
Annals of Nutrition & Metabolism. Vienna: Karger, 2001. v.45. p.1 - 604
- SILVA, M. E., FERNANDES, C. C., PEDROSA, R. G., SANTOS, A. C.
"Avaliação do Estado nutricional e do uso como Suplemento Alimentar da Farinha feita com Verduras, Frutas e Legumes recolhidos em feiras e mercados de Ouro Preto" 1995 In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS Avanços e Perspectivas, 1995, Campinas.
13. **SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS Avanços e Perspectivas**. Campinas: Unicamp, 1995. v.1. p.60 -

Comunicações e Resumos Publicados em Anais de Congressos ou Periódicos (resumo expandido)

- José Donato Jr., PEDROSA, R. G., TIRAPEGUI, J.
"CONSEQUÊNCIAS DA VARIAÇÃO DO PESO CORPORAL E EM PARÂMETROS METABÓLICOS EM RATOS" In: XIX Seminário de Pós-Graduação, 2004, São Paulo.
1. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo: , 2004. v.40. p.124 - 127

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 30/08/2007 às 18:44:52.