

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**LICENCIATURA EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

**EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DA SUPLEMENTAÇÃO DE WHEY**  
**PROTEINS SOBRE OS PARÂMETROS CREATININA E UREIA DE RATOS**  
**WISTAR**

ELAINE PAIVA VIEIRA

SÃO LUÍS

2019

ELAINE PAIVA VIEIRA

**EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DA SUPLEMENTAÇÃO DE WHEY  
PROTEINS SOBRE OS PARÂMETROS CREATININA E UREIA DE RATOS  
WISTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito para obtenção  
de grau de Licenciado em Educação Física  
pela Universidade Federal do Maranhão.

Orientador: Dr. Antonio Coppi Navarro.  
Coorientador: Francisco Navarro.

SÃO LUÍS

2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

PAIVA VIEIRA, ELAINE.

EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DA SUPLEMENTAÇÃO DE  
WHEY PROTEINS SOBRE OS PARÂMETROS CREATININA E UREIA DE  
RATOS WISTAR / ELAINE PAIVA VIEIRA. - 2019.

37 p.

Coorientador(a): FRANCISCO NAVARRO.

Orientador(a): ANTONIO COPPI NAVARRO.

Curso de Educação Física, Universidade Federal do  
Maranhão, SÃO LUÍS, 2019.

1. CREATININA. 2. RATOS WISTAR. 3. TREINAMENTO  
RESISTIDO. 4. UREIA. 5. WHEY PROTEINS. I. COPPI  
NAVARRO, ANTONIO. II. NAVARRO, FRANCISCO. III. Título.

ELAINE PAIVA VIEIRA

**EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DA SUPLEMENTAÇÃO DE WHEY  
PROTEINS SOBRE OS PARÂMETROS CREATININA E UREIA DE RATOS  
WISTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito para obtenção  
de grau de Licenciado em Educação Física  
pela Universidade Federal do Maranhão.

São Luís, 09 de dezembro de 2019.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Antônio Coppi Navarro  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Francisco Navarro  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Cristiano Teixeira Mostarda  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Janaína de Oliveira Brito Monzani  
Universidade Federal do Maranhão

**EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DA SUPLEMENTAÇÃO DE WHEY  
PROTEINS SOBRE OS PARÂMETROS CREATININA E UREIA DE RATOS  
WISTAR**

Elaine Paiva Vieira<sup>1,2</sup>, Antonio Coppi Navarro<sup>2,4</sup>, Alanna Joselle Santiago Silva<sup>2,3</sup>

Francisco Navarro<sup>2,4</sup>

1- Graduação em Educação Física na Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, Brasil.

2 - Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão na Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, Brasil.

3 - Faculdade de Educação São Francisco, Pedreiras-MA, Brasil.

4 - Programa de Pós-Graduação Mestrado em Educação Física da Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, Brasil.

E-mail dos autores:

elainepaiva72@gmail.com

ac-navarro@uol.com.br

alanna.santiago.s@gmail.com

francisconavarro@uol.com.br

Autor correspondente:

Elaine Paiva Vieira

elainepaiva72@gmail.com

Rua da Igreja, nº18

Vila Ariri, São Luís-MA, Brasil

CEP: 65082-310

Telefone: 55 98 98740-4814

## RESUMO

**Introdução:** A suplementação proteica com a finalidade de hipertrofia muscular tem aumentado nos últimos anos. Dietas hiperproteicas aumentam a concentração de ureia e ácidos, provenientes do metabolismo das proteínas. Portanto, o uso de altas doses de *whey proteins* precisa ser verificado frente aos seus efeitos sob a função renal. **Objetivo:** Avaliar o efeito do consumo de  $2\text{g/kg/dia}^{-1}$  e  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$  *whey proteins* sobre marcadores bioquímicos creatinina e ureia após 12 semanas de treinamento resistido em ratos machos *wistar*. **Materiais e Métodos:** Pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão sob nº de registro: 23115.01804/2017-91. A amostra foi composta por 52 ratos *wistar* machos com idade inicial de 60 dias e massa corporal total de 250 a 350g distribuídos em 6 grupos: controle (C) (n=10), suplementado com  $2\text{g/kg/dia}^{-1}$  (W2) (n=10), suplementado com  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$  (W4) (n=7), treino controle (TC) (n=10), suplementado e treinado com  $2\text{g/kg/dia}^{-1}$  (TW2) (n=9) e suplementado e treinado com  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$  (TW4) (n=6). Os ratos foram alimentados com ração balanceada padrão para roedores e água *ad libitum*. O protocolo teve duração de 12 semanas de treinamento resistido com suplementação diária de *whey proteins* por gavagem em três sessões por dia. As doses foram ajustadas semanalmente pela massa corporal do animal. O treinamento resistido foi realizado em escada vertical com frequência de 3 vezes por semana com 48h de intervalo entre as sessões. Ao final das 12 semanas, 48h após a última intervenção, foi coletada a urina de 24h em gaiola metabólica. Após a eutanásia, a coleta de sangue foi realizada e os marcadores séricos foram analisados em duplicata no mesmo dia. A determinação da concentração dos marcadores bioquímicos foi constituída de leitura em absorbância e equação específica dos parâmetros creatinina e ureia (Labtest® - Creatinina K Ref. 96). **Resultados:** Não houve diferença significativa nos níveis de creatinina séria e os níveis séricos de ureia foram menores nos grupos. Os níveis de creatinina e ureia urinária de 24 horas não apresentaram diferença assim como a depuração de creatinina. A relação creatinina foi significativamente maior apenas no grupo controle em relação os grupos suplementados e ao treinado controle. **Discussão:** Não foi percebido alterações nos níveis destes marcadores ao examinar os efeitos da *whey proteins* nos parâmetros renais. Porém, a maior excreção de Creatinina de 24h (mg/kg) no grupo TW4 em comparação à TC demonstra possível efeito do treinamento resistido sobre o aumento da massa muscular associada a dose de  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$ . **Conclusão:** O tratamento de ratos machos *wistar* suplementados com *whey proteins* nas doses de  $2\text{g/kg/dia}^{-1}$  e  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$  durante 12 semanas não resultou em prejuízo de função renal.

**Palavras-chave:** *Whey proteins*. Treinamento resistido. Creatinina. Ureia. Ratos *wistar*.

## ABSTRACT

**Introduction:** Protein supplementation for muscle hypertrophy purposes has increased in recent years. The high protein diet increases the concentration of urea and acids in protein metabolism. Therefore, the use of high doses of whey proteins needs to be verified in relation to their effects on renal function. **Objective:** To evaluate the effect of whey protein consumption of  $2\text{g/kg/day}^{-1}$  and  $4\text{g/kg/day}^{-1}$  on creatinine and urea biochemical markers after 12 weeks of resistance training in male wistar rats. **Materials and Methods:** Research approved by the Animal Ethics Committee of the Federal University of Maranhão under registration number: 23115.01804/2017-91. The sample consisted of 52 male Wistar rats, with initial age of 60 days and total body mass from 250 to 350g, divided into 6 groups: control (C) (n=10), supplemented with  $2\text{g/kg/day}^{-1}$  (W2). (n=10), supplemented with  $4\text{g/kg/day}^{-1}$  (W4) (n=7), control training (TC) (n=10), supplemented and trained with  $2\text{g/kg/day}^{-1}$  (TW2) (n=9) and supplemented and trained at  $4\text{g/kg/day}^{-1}$  (TW4) (n=6). The rats were fed standard rodent balanced feed and water ad libitum. The protocol lasted 12 weeks of resistance training with daily whey protein supplementation by gavage in three sessions per day. The doses were adjusted weekly by the body mass of the animal. Resistance training was performed on a vertical ladder 3 times a week, with a 48-hour interval between sessions. At the end of 12 weeks, 48 hours after the last intervention, 24-hour urine was collected in a metabolic cage. After euthanasia, blood collection was performed, and serum markers were analyzed in duplicate on the same day. The determination of the concentration of biochemical markers consisted of the absorbance reading and the specific equation of the creatinine and urea parameters (Labtest® - Creatinine K Ref. 96). **Results:** There was no significant difference in serum creatinine levels and serum urea levels were lower in the groups. 24-hour urine creatinine and urea levels did not differ, as did creatinine clearance. The creatinine ratio was significantly higher only in the control group compared to the supplemented groups and the trained control group. **Discussion:** No changes in the levels of these markers were observed when examining the effects of whey proteins on renal parameters. However, a higher creatinine excretion of 24h (mg / kg) in the TW4 group compared to CT demonstrates a possible effect of resistance training on muscle mass increase associated with a dose of  $4\text{g/kg/day}^{-1}$ . **Conclusion:** Treatment of male wistar rats supplemented with whey protein at doses of  $2\text{g/kg/day}^{-1}$  and  $4\text{g/kg/day}^{-1}$  for 12 weeks did not impair renal function.

**Key words:** *Whey proteins*. Resistance training. Creatinine. Urea. Wistar rats.

## INTRODUÇÃO

A proteína do soro do leite, denominadas comercialmente como *whey proteins*, pode ser extraída da porção aquosa do leite durante o processo de fabricação de queijo e representa 20% do teor proteico do mesmo e possui aspectos nutricionais amplamente estudados ao longo das últimas décadas (HARAGUCHI, ABREU, PAULA, 2006; KRISSENSSEN, 2007). Estas proteínas podem ter origens vegetal ou animal e velocidades de absorção variadas (TANG, PHILLIPS, 2009).

Pesquisas têm demonstrado as qualidades nutricionais das proteínas do soro do leite, altamente consumidas com o objetivo de hipertrofia muscular, sua grande aplicabilidade em atletas, no esporte, com possíveis efeitos sobre a síntese proteica muscular esquelética, redução da gordura corporal, assim como a modulação da adiposidade e melhora do desempenho físico (HARAGUCHI, ABREU, PAULA, 2006).

Tais proteínas caracterizam-se como de alto valor biológico, por serem solúveis e apresentarem um excelente perfil de aminoácidos. Possuem peptídeos bioativos do soro, que conferem a essas proteínas diferentes propriedades funcionais. Os aminoácidos essenciais, com destaque para os de cadeia ramificada, favorecem o anabolismo, assim como a redução do catabolismo proteico, favorecendo o ganho de força muscular e reduzindo a perda de massa muscular durante a perda de peso (HARAGUCHI, ABREU, PAULA, 2006).

Portanto, sabe-se que os padrões estéticos ditados pela indústria cultural do momento, proporcionou um aumento na preocupação com a qualidade de vida e principalmente com a fisionomia do corpo, sendo estes dois aspectos frequentemente confundidos (BAUDRILLARD, 2003), guiando pessoas, de diferentes faixas etárias, ao excesso de atividades físicas e ao consumo não orientado de produtos alimentares



suplementados. Desta forma, o consumo de *whey proteins* com concentração de 80% ou até superior a 90% vem se tornando cada vez mais constante na população (CRIBB, 2005).

Todavia, é importante destacar que apesar do treinamento resistido objetivar principalmente o aumento da massa muscular, os resultados obtidos com o treinamento regular, variam a massa corpórea de 0 a 1 kg por mês, sendo ainda os mesmos considerados insatisfatórios por muitos dos praticantes (TIRAPEGUI, MENDES, 2001).

Por esta razão, conforme demonstram estudos como os de Araújo, Andreolo, Silva (2002), Pereira, Lajolo, Hirschbruch (2003), os praticantes de treinamento resistido passam a ingerir altas doses de suplementos nutricionais de forma a alcançar resultados aparentemente mais rápidos. Portanto, o uso indiscriminado de suplementos proteicos e à base de aminoácidos tem despertado o interesse em avaliar possíveis efeitos prejudiciais à saúde associados à ingestão de doses excessivas, especialmente sobre a função renal (SANTOS, 2016).

Logo, estudos também têm mostrado que as dietas com teor proteico aumentado elevam a taxa de filtração glomerular (VIBERTI et al., 1987; CHAN et al., 1988; SIMON et al., 2013) em indivíduos com função renal normal. Conquanto, não existe consenso na literatura científica que indique que o uso de dietas hiperproteicas possam causar prejuízo à função renal em indivíduos saudáveis.

A função primordial dos rins é a manutenção da homeostasia, regulando o meio interno predominantemente pela reabsorção de substâncias e íons filtrados nos glomérulos e excreção de outras substâncias (SODRÉ, COSTA, LIMA, 2007). A redução significativa, lenta, gradual e progressiva das funções renais excretoras,

endócrinas e metabólicas caracteriza um quadro de Doença Renal Crônica, que acarreta a diminuição da taxa de filtração glomerular.

Quando se avalia pacientes com quedas abruptas da taxa de filtração glomerular a relação entre ureia e creatinina pode ser útil podendo apresentar-se alterada em estados patológicos diferentes (DUSSE et al., 2016). Embora a ureia seja um preditor fraco da filtração glomerular, apresentando limitações por ser filtrada livremente pelo glomérulo e não ser reabsorvida nem secretada ativamente, alterações nos níveis plasmáticos da ureia decorrentes de insuficiência renal surgem mais precocemente quando comparado à creatinina (VIDIGAL, 2009; STEVENS, LEVEY, 2005).

Atualmente, devido aos elevados índices de prevalência e incidência, a Doença Renal Crônica constitui um relevante problema de saúde pública, acometendo milhares de pessoas no Brasil e no mundo (ROMÃO JUNIOR, 2003). Desta forma, a escolha de biomarcadores utilizados como indicadores permite analisar se há lesão e em qual estágio se encontra, como é o caso da ureia e creatinina que são metabólitos utilizados como biomarcadores renais (SILVA, SOUSA, ROCHA, 2017).

A ureia é caracterizada como o principal metabólito nitrogenado resultante da degradação de proteínas pelo organismo, sendo 90% excretados pelos rins e correspondendo a aproximadamente 75% do nitrogênio não-proteico excretado. O restante da ureia é eliminado basicamente pelo trato gastrointestinal e pela pele através do suor (SODRÉ, COSTA, LIMA, 2007).

No caso da creatinina, trata-se de um produto residual da creatina. A transformação de creatina em creatinina acontece no tecido muscular, no qual 1% a 2% da creatina livre se converte espontânea e irreversivelmente em creatinina todos

os dias. Logo, a quantidade de creatinina produzida é dependente da massa muscular e não apresenta grandes variações diárias, sendo filtrada livremente no glomérulo.

Diferente da ureia, a creatinina é ativamente secretada em uma pequena parcela, mas o suficiente para superestimar a taxa de filtração glomerular (SODRÉ, COSTA, LIMA, 2007). As concentrações de creatinina sérica possibilitam informações importantes sobre a função renal, valores elevados no soro podem ser indicativos de lesão renal (ALMEIDA, 2014).

Logo, os efeitos de dietas com altas doses de *whey proteins* precisam ser verificados frente às alterações patológicas que possam causar interferência na função renal, portanto, na concentração de creatinina e na ureia (SANTESSO et al., 2012; MARTIN et al., 2013), derivada do aumento da taxa de filtração glomerular e da carga ácida renal (VAN DEN BERG et al., 2011; GORAYA, WESSON, 2012).

À vista disso, com intuito de identificar o consumo abusivo de doses elevadas de *whey proteins* que possam causar efeitos deletérios sobre a função renal, podendo ser indicadas através da alteração dos biomarcadores ureia e creatinina, o presente estudo se faz necessário para elucidar as possíveis alterações relacionados à função renal em detrimento às doses supra fisiológicas de *whey proteins* em ratos sedentários em comparação a ratos submetidos ao treinamento resistido.

Devido a isso, o objetivo geral deste trabalho foi verificar os efeitos em biomarcadores de função renal creatinina e ureia em ratos machos *wistar* após 12 semanas de treinamento resistido e com suplementação de *whey proteins nas doses de 2g/kg/dia<sup>-1</sup> e 4g/kg/dia<sup>-1</sup>*, em comparação com o grupo sedentário.

Desta forma, nossa hipótese é que doses de 2g/kg/dia<sup>-1</sup> de *whey proteins* não influenciam na concentração da creatinina e da ureia, tanto no grupo sob treinamento

resistido quanto no grupo sedentário e doses de  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$  de *whey proteins* influenciam na concentração da creatinina e da ureia, tanto no grupo sob treinamento resistido quanto no grupo sedentário e que os grupos sob treinamento resistido não terão prejuízo na concentração da creatinina e da ureia em comparação com o grupo sedentário.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **- Considerações éticas**

Os ensaios biológicos foram de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA, 2012). O projeto de pesquisa foi submetido junto à Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA, da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, onde obteve a devida aprovação sob o número de registro: 23115.01804/2017-91, estando assim de acordo com os padrões legais para uso de animais em procedimentos de ensino e/ou pesquisa, conforme Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008.

### **- Tipo e local do estudo**

Trata-se de um teste pré-clínico do tipo experimental com duração de doze semanas (CONCEA, 2015).

Os procedimentos experimentais foram realizados no anexo do Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão - LAFIPEMA, localizado no Centro de Pesquisa de Pós-Graduação das Ciências Biológicas e da Saúde, na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís - MA.

## **- Amostra**

Foram utilizados 52 *Rattus Novergicus Wistar Albinus* machos com idade inicial de 60 dias e massa corporal aproximada de 250 a 350g, procedentes do Biotério Central de Criação da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, Campus Bacanga, em São Luís-MA.

Os animais foram divididos em 6 grupos, sendo: Grupo Controle (C) (n=10), grupo treinamento controle (TC) (n=10), grupo suplementado com 2g/kg/dia (W2) (n=10) grupo suplementado com 4g/kg/dia (W4) (n=7), grupo treinamento resistido e suplementado com 2g/kg/dia (TW2) (n=9) e grupo treinamento resistido e suplementado com 4g/kg/dia (TW4) (n=6).

Os ratos, em cada grupo foram diferenciados através da marcação de traços na cauda com violeta genciana.

Os ratos permaneceram sob condições higiênicas em gaiolas coletivas, mantidos em uma sala climatizada com controle de temperatura entre 24°C a 28°C, e sob ciclo alternado de claro/escuro de 12 horas. Foram alimentados *ad libitum* com água e ração balanceada padrão para roedores (*Nuvilab CR-1®*).

## **- Procedimentos**

### **Treinamento resistido**

Na semana 0, antes do início do protocolo experimental, foi realizado a adaptação ao treinamento. Os animais foram gradativamente adaptados ao ato de escalar com o equipamento de carga, porém sem a carga, fixado na cauda durante três dias não consecutivos, tendo como intervalo 48h entre sessões de adaptações.

Cada sessão consistiu em 4 escaladas, com intervalos de 120 segundos entre elas (LEITE et al., 2013).

O teste de Peso Máximo Carregado (PMC), que consistiu em até 9 escaladas com intervalo de 120 segundos entre as tentativas, foi aplicado 48h após a última sessão de familiarização do treinamento. Adotando-se como carga inicial para a primeira escalada 75% da massa corporal total do rato e o incremento de 30g sendo acrescido a cada tentativa.

Ao haver falha em escalar toda a extensão da escada, era estipulado a carga máxima, então adotava-se a carga da escalada completada anteriormente. Definiu-se como falha a tentativa, sem êxito, de continuar a escalada após 3 estímulos consecutivos na cauda do rato por meio do uso de pinças. O teste foi considerado válido apenas quando a carga máxima era identificada entre 4 a 9 escaladas. Do contrário, o teste era refeito após 48h (LEITE et al., 2013).

A aplicação do teste de Peso Máximo Carregado foi realizada a cada duas semanas, durante as 12 semanas de treinamento nos grupos TC, TW2 e TW4, a fim de identificar a carga máxima para realizar-se as adaptações da força máxima ao longo tempo e a prescrição da intensidade de carga para o treinamento resistido ao longo das 12 semanas de experimento.

O treinamento resistido teve frequência de 3 sessões semanais, não consecutivas, ao longo das 12 semanas de treinamento. O protocolo utilizado foi de acordo com a padronização de Hornberg e Farrar (2004), que consiste em 4 escaladas na escada por sessão de treinamento com intensidade crescente de 50%, 75%, 90% e 100% do Peso Máximo Carregado determinado em teste (LEITE et al., 2013), caracterizando um treinamento resistido intenso.



**Figura 1** - Escada de Treinamento resistido para ratos, adaptada de Honberg e Farrar (2004).

(Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão - LAFIPEMA).

### **Whey proteins**

A solução padrão foi calculada com base na quantidade de proteínas (22g) por porção (25g) do suplemento H.I Whey (*Essential Nitrition®*) de acordo com a descrição de composição (quadro 1 e 2), utilizando balança de precisão (*Marte® AD 200*) para mensuração do soluto (g).

**Quadro 1 - Composição Nutricional do suplemento H.I Whey (Essential Nitriton®).**

Quantidade por porção (25 gramas)		
Nutriente	g/porção	Valor diário (%)
Carboidratos	0	0%
Proteínas	22	29%
Gorduras Totais	0	0%
Fibra alimentar	0	0%
Sódio	79mg	3%
Cálcio	118mg	12%
Fósforo	63mg	9%
Magnésio	22mg	8%

**Quadro 2 - Aminograma do suplemento H.I Whey (Essential Nitriton®).**

Quantidade por porção (25 gramas)	
Aminoácidos	g/porção
Ácido aspártico	2,6
Ácido glutâmico	3,7
Alanina	1,2
Arginina	0,5
Cistina	0,6
Fenilalanina	0,7
Glicina	0,4
Histidina	0,3
Isoleucina	1,5
Leucina	2,3
Lisina	2,2
Metionina	0,5
Prolina	1,4
Serina	1,1
Tirosina	0,6
Treonins	1,7
Triptofano	0,3
Valina	1,3



O soluto suplemento comercial (H.I Whey (*Essential Nutrition®*) foi diluído em água em concentração comum de 0,323g/mL que corresponde a 0,284g/mL de *Whey proteins*.

### **Doses de Whey proteins**

As doses administradas foram de 2g/kg/dia e 4g/kg/dia de *whey proteins*, distribuídas aos ratos, por grupo, conforme descrito no treinamento resistido. As doses foram administradas via gavagem de solução padrão de *whey proteins* dissolvido em água com concentração comum de 0,323g/mL do Suplemento (H.I Whey: Essencial Nutrition®), que corresponde a 0,284g/mL de proteínas do soro do leite, tendo reajuste semanal com base na massa corporal total do rato.

A adaptação à gavagem foi realizada diariamente antes do início do protocolo experimental, na mesma semana de adaptação ao treinamento resistido (semana 0). Os ratos foram adaptados gradativamente ao serem manipulados pelos pesquisadores da equipe executora. Desta forma, os ratos eram contidos de modo que a cabeça fosse mantida imóvel para o procedimento.

Cada gavagem foi determinada de acordo com a massa corporal total do rato, sendo 2mL para cada 100g de peso corporal do rato, tendo reajuste semanal conforme o peso corporal atualizado do rato, padronizando-se um volume total de 5mL por sessão de gavagem conforme o estipulado para administrações de soluções aquosas (ANDERSEN, 2004). Os grupos controle (C) e treinamento controle (TC) tiveram tratamento com água com mesmo volume de gavagem (5mL) administrado também conforme o descrito por Andersen (2004).

A gavagem foi realizada com agulha específica com ponta-bola (*Bonther*®), ideal para evitar danos no esôfago, sendo introduzida lentamente na cavidade oral, através da boca do animal.



**Figura 2 - Gavagem.**

(Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão - LAFIPEMA).



**Figura 3 - Seringa e agulha de gavagem.**

(Fonte: Laboratório de Fisiologia e Prescrição do Exercício do Maranhão – LAFIPEMA).

A ração padrão foi diariamente retirada das gaiolas 60 minutos antes do início da primeira gavagem, sendo devolvida apenas quando finalizadas as três sessões de gavagem. O tratamento foi realizado durante 12 semanas, com três sessões de gavagem por dia com intervalo de 60 minutos entre elas.

E vinte e quatro horas após os procedimentos experimentais finais e com 12 horas de privação de alimentos, os ratos foram eutanasiados com injeção intraperitoneal de cetamina e xilazina a 70 mg/kg e 10mg/kg respectivamente (LEARY et al., 2013). Esses critérios de eutanásia foram eleitos por não causar dor aos animais contemplando assim as Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, 2015).

## **Material biológico**

### **Coleta e análise da urina**

Ao término das 12 semanas de experimento, os ratos foram alocados em gaiolas metabólicas individuais (Beira-mar® MA122) por 24 horas, previamente higienizadas para coleta de urina, em ambiente com ciclo claro/escuro, com livre acesso à ração e água (TOGASHI e MIYAMOTO, 2013).

Para determinação da concentração de creatinina, inicialmente a urina foi diluída em água destilada com proporção de 1:25 e em seguida realizou-se o procedimento de desproteinização da amostra de urina em ácido pícrico, sendo agitada e centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos. Posteriormente, utilizou-se para análise o sobrenadante para a determinação da concentração de creatinina por cinética de dois pontos conforme a reação com o hidróxido de sódio.

Foram realizadas duas leituras em absorbância de 510nm nos tempos 30 e 90 segundos, que foram utilizados em equação específica para determinação da concentração. O resultado obtido foi multiplicado por 25 (*Labtest® - Creatinina K Ref. 96*).

Para determinação da ureia urinária utilizou-se sistema enzimático por cinética de dois pontos, tendo como princípio hidrolização da ureia pela urease. A princípio a urina foi diluída em água destilada com proporção de 1:50 e sendo realizada duas leituras em absorbância de 340nm nos tempos de 30 e 90 segundos, que foram utilizadas em equação específica para determinação da concentração. O resultado obtido foi multiplicado por 50 (*Labtest® - Creatinina K Ref. 96*).

### **Coleta e análise do sangue**

Após a eutanásia, foi realizada a coleta de sangue por decapitação em guilhotina (*Beira-mar®*), sendo o sangue armazenado em tubo específico para separação do soro (*Vacutainer®*). As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos para separação do soro nas instalações do Laboratório de Bioanálises, localizado no Centro de Pesquisa de Pós-Graduação das Ciências Biológicas e da Saúde, na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís - MA.

Para análise da creatinina sérica, inicialmente foi realizado o procedimento de desproteinização da amostra de soro em ácido pícrico, sendo agitado e centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos. Em seguida, utilizou-se para análise o sobrenadante líquido para a determinação da concentração de creatinina por cinética de dois pontos conforme a reação com o hidróxido de sódio.

Foram realizadas duas leituras em absorvância de 510nm nos tempos de 30 e 90 segundos, que foram utilizadas em equação específica para determinação da concentração (*Labtest® - Creatinina K Ref. 96*).

Para determinar a concentração de ureia no soro utilizou-se sistema enzimático por cinética de dois pontos, tendo como princípio hidrólise da ureia pela urease, sendo realizada duas leituras em absorvância de 340nm nos tempos de 30 e 90 segundos, que foram utilizadas em equação específica para determinação da concentração (*Labtest® - Creatinina K Ref. 96*).

## **Estatística**

As variáveis foram testadas quanto à distribuição da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ( $p > 0,05$ ). Para a comparação das variáveis de medidas utilizou-se o teste ANOVA *One-Way*. O post-hoc de Tukey foi utilizado para determinar as diferenças estatísticas entre todas as análises e nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . O software utilizado para as análises estatísticas foi o GraphPad Prism versão 8.1.0.

## 6 RESULTADOS

**Tabela 01** - Concentração dos marcadores urinários creatinina e ureia (absolutos e por 24h), apresentados em média e erro padrão da média.

	C	W2	W4	TC	TW2	TW4
	(n=10)	(n=10)	(n=7)	(n=10)	(n=9)	(n=6)
Creatinina	102,02	132,81	105,25	83,12	187,08**	206,98** $\alpha$
(mg/dL)	$\pm 22,29$	$\pm 141,84$	$\pm 6,41$	$\pm 6,35$	$\pm 30,33$	$\pm 14,11$
Creatinina de 24h <sup>a</sup>	14,18	13,75	12,23	8,70	12,67	15,48
(mg/24h)	$\pm 3,69$	$\pm 1,32$	$\pm 1,30$	$\pm 0,89$	$\pm 1,29$	$\pm 0,87$
Ureia	2704,96	5768,06	3774,79	4524,81	8809,41**	8620,60*
(mg/dL)	$\pm 842,42$	$\pm 1078,52$	$\pm 322,31$	$\pm 334,54$	$\pm 1744,99$	$\pm 1171,09$
Ureia de 24h <sup>b</sup>	343,44	583,15	376,28	480,34	608,56	723,90
(mg/24h)	$\pm 122,42$	$\pm 66,73$	$\pm 25,14$	$\pm 60,58$	$\pm 122,04$	$\pm 130,57$

C = Controle sedentário não suplementado; W2 = Sedentário suplementado com 2g/kg/dia<sup>-1</sup>; W4 = Sedentário suplementado com 4g/kg/dia<sup>-1</sup>; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado suplementado com 2g/kg/dia<sup>-1</sup>; TW4 = Treinado suplementado com 4g/kg/dia<sup>-1</sup>. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (intergrupos)**: Símbolos na horizontal indicam maior média ( $p < 0,05$ ) = \* vs. C; # vs. TC;  $\alpha$  vs W4. **Equações**: a= [Creatinina (mg/dL) x Volume (mL/24h) / 100]; b= [Ureia (mg/dL) x Volume (mL/24h) / 100].

Conforme apresentado na Tabela 01, no marcador Creatinina (mg/dL), houve maior concentração na urina dos animais treinados e suplementados TW2 e TW4 em relação ao controle sedentário não suplementado, com valores significativos ( $p=0,0196$ ) e ( $p=0,072$ ,) respectivamente. Semelhantemente, os grupos treinados e suplementados também apresentaram maiores valores de concentração de creatinina na urina do que o grupo controle treinado não suplementado ( $p=0,0018$ ) e ( $p=0,0008$ ).

Quando comparado os grupos treinados com os grupos sedentários suplementados com mesma dose, não houve diferença entre as concentrações de Creatinina para os grupos suplementados com  $2\text{g/kg/dia}^{-1}$ . Porém, para a dose de  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$  houve diferença entre os grupos havendo maior excreção de Creatinina para o grupo submetido ao treinamento.

Os grupos treinados e suplementados não apresentaram diferenças entre si na Creatinina urinária. Os grupos sedentários e suplementados também não apresentaram diferença entre si.

Nos resultados do marcador Ureia (mg/dL) os grupos TW2 e TW4 apresentaram maior concentração de Ureia na concentração de urina em comparação ao grupo controle ( $p=0,0018$ ) e ( $p=0,0169$ ) respectivamente. Semelhantemente, TW2 teve maior concentração de Ureia em relação ao TC ( $p=0,447$ ).

Os grupos controle sedentários e suplementados não apresentaram diferença entre si, da mesma forma os grupos treinados e suplementados não apresentaram diferenças entre si na Ureia urinária.

Quando observada, porém, a Creatinina e a Ureia normalizadas pelo volume de urina de 24h (mg/24h), todas as diferenças apresentadas na Creatinina e na Ureia em mg/dL foram normalizadas.

**Tabela 02** - Concentração dos biomarcadores séricos Creatinina e Ureia apresentados em média e erro padrão da média.

	C	W2	W4	TC	TW2	TW4
	(n=10)	(n=10)	(n=7)	(n=10)	(n=9)	(n=6)
Creatinina Sérica	0,35	0,30	0,48	0,35	0,50	0,51
(mg/dL)	±0,8	±0,04	±0,07	±0,02	±0,05	±0,08
Ureia Sérica	50,44*# <sup>α</sup>	33,74	27,98	37,19	34,09	34,70
(mg/dL)	±7,19	±1,73	±1,01	±1,36	±2,02	±1,20

C = Controle sedentário não suplementado; W2 = Sedentário suplementado com 2g/kg/dia<sup>-1</sup>; W4 = Sedentário suplementado com 4g/kg/dia<sup>-1</sup>; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado suplementado com 2g/kg/dia<sup>-1</sup>; TW4 = Treinado suplementado com 4g/kg/dia<sup>-1</sup>. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (intergrupos):** Símbolos na horizontal indicam maior média (p<0,05) = \* vs. W2; # vs. W4; α vs TW2. **Equações:** a= [Creatinina (mg/dL) x Volume (mL/24h) / 100]; b= [Ureia (mg/dL) x Volume (mL/24h) / 100].



De acordo com a Tabela 02, não houve diferença significativa na concentração de Creatinina Sérica (mg/dL) entre os grupos.

No marcador Ureia Sérica, o grupo controle sedentário e não suplementado apresentou maior média de concentração sérica em comparação com W2, W4 e TW2 ( $p=0,0190$ ), ( $p=0,0018$ ) e ( $p=0,0301$ ) respectivamente. Os grupos controle sedentários e suplementados não apresentaram diferença entre si, da mesma forma os grupos treinados e suplementados não apresentaram diferenças entre si na Ureia urinária.

**Tabela 03** – Equações de estimativa da função renal, com resultados apresentados em média e erro padrão.

	C	W2	W4	TC	TW2	TW4
	(n=10)	(n=10)	(n=7)	(n=10)	(n=9)	(n=6)
Creatinina de 24h <sup>a</sup>	31,14	38,31	24,24	18,05	28,51	37,89*
(mg/kg)	±7,74	±2,32	±2,59	±1,60	±2,55	±1,57
Depuração de Creatinina <sup>b</sup>	4,47	3,57	2,34	1,77	1,87	2,61
(mL/min)	±2,20	±0,54	±0,49	±0,19	±0,27	±0,70
Relação Ureia/Creatinina <sup>c</sup>	236,40 <sup>#α*βΩ</sup>	121,63	76,88	110,06	72,58	84,93
(mg/g)	±52,75	±11,05	±15,97	±7,67	±7,12	±23,38

C = Controle sedentário não suplementado; W2 = Sedentário suplementado com 2g/kg/dia<sup>-1</sup>; W4 = Sedentário suplementado com 4g/kg/dia<sup>-1</sup>; TC = Treinado não suplementado; TW2 = Treinado suplementado com 2g/kg/dia<sup>-1</sup>; TW4 = Treinado suplementado com 4g/kg/dia<sup>-1</sup>. **ANOVA One-Way post hoc Tukey (intergrupos):** Símbolos na horizontal indicam maior média (p<0,05) = # vs. W2; α W4; \* vs. TC; β vs. TW2; Ω vs. TW4. **Equações:** a= [Creatinina de 24h (mg/24h) / Massa Corporal (Kg)]; b= [Creatinina Urinária (mg/dL) x Volume (mL/24h) / Creatinina Sérica (mg/dL)]; c= [Ureia Sérica (mg/dL) / Creatinina Sérica (mg/dL)].

Conforme apresentado na Tabela 03, a Creatinina de 24h em mg/kg apresentou diferença significativa entre os grupos treinado e suplementado com dose de 4g/kg/dia<sup>-1</sup> e treinado não suplementado, tendo TW4 maior média que TC (p=0,0378). Os ratos submetidos a treinamento resistido e tratados com *whey proteins* não apresentaram diferença entre si em relação a Creatinina de 24h relativa à massa corporal. Da mesma forma, os grupos submetidos a treinamento resistido e não suplementado não apresentaram diferença entre si.

De acordo os dados da Tabela 03, não houve diferença significativa na concentração de Depuração de Creatinina (mL/min) entre os grupos.

Quando observada a Relação Ureia/Creatinina (mg/g), nota-se que no grupo controle há maior concentração em comparação aos grupos W2 (p=0,0373), W4 (p=0,0031), TC (p=0,0150), TW2 (p=0,0008) e TW4 (p=0,0100). Havendo, desta forma, todos os grupos apresentaram diferença em relação ao controle. Porém, não tiveram diferença entre si.

## DISCUSSÃO

Em um estudo, Haraguchi et al., (2009) investigaram durante 8 semanas a influência das *whey proteins* sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea de 32 ratos *fisher* hipercolesterolêmicos. A concentração sérica de Creatinina nos grupos com dietas *whey proteins* e *whey proteins* hipercolesterolemiantes não apresentou diferença significativa, semelhantemente aos resultados deste estudo. Com relação à concentração sérica de Ureia os resultados foram semelhantes entre os grupos, diferentemente dos nossos resultados, onde o grupo controle sedentário não suplementado apresentou maior média de concentração em comparação com W2, W4 e TW2.

Desta forma, Haraguchi et al., (2009) apontam que as proteínas do soro impediram de forma significativa o aumento na concentração de creatinina, sugerindo um efeito protetor do comprometimento da função renal gerado pela dieta hipercolesterolemiantes.

Semelhante aos resultados encontrados por Athira et al., (2013) em seu estudo, onde avaliaram o potencial de melhoria de hidrolisado de *whey proteins* (WPH) contra o stress oxidativo induzido pelo paracetamol em 24 camundongos. A administração de WPH (4mg/kg) por injeção intraperitoneal antes e após a administração de paracetamol diminuiu significativamente os níveis de creatinina sérica. Os níveis de creatinina sérica também diminuíram significativamente em camundongos que receberam WPH administrado por via oral após a aplicação de paracetamol. A redução nos níveis de creatinina sérica após tratamento intraperitoneal e oral com WPH estabeleceu o efeito antioxidante in vivo. Diante disso, Athira et al., (2013)

concluíram que WPH desenvolve um efeito protetor do comprometimento da função renal induzida por paracetamol.

Por sua vez, no estudo de Chen et al., (2014) não foi identificadas diferenças significativas na creatinina sérica entre os grupos sedentário suplementado e treinado suplementado em seu estudo sobre melhora do desempenho no exercício e perfis bioquímicos em camundongos suplementados com *whey proteins* (dose de 4,1g/kg/dia<sup>-1</sup>). Da mesma forma, Lollo et al., (2012) investigaram os efeitos de *whey proteins* (17% de proteína) e de caseína mais leucina em 96 ratos *wistar* treinados, porém, não foram detectadas mudanças claras nos níveis de creatinina sérica, não sendo percebidas alterações nesse marcador, similarmente aos achados deste estudo.

Franzen et al., (2016) realizaram um estudo crônico de 8 semanas com 24 ratos *wistar* tratados com doses baixas de proteína (10% de *whey* em ração). Os autores não encontraram diferenças significativas entre os níveis basais e no fim do tratamento em nenhum grupo experimental em relação aos valores de Ureia e Creatinina séricas. Portanto, não foi percebidas alterações nos níveis destes marcadores, semelhantemente aos nossos achados no marcador Creatinina sérica e divergindo no marcador Ureia sérica.

O estudo de Santos et al., (2016) sobre efeitos da suplementação alimentar com dose de *whey proteins* a 1,8g/kg/dia<sup>-1</sup> em 28 ratos *wistar* sedentários mostrou que não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratados e o grupo controle para os níveis séricos de Creatinina e Ureia, indicando que não houve prejuízo sobre a função renal. Estes resultados corroboram com os achados neste estudo, não havendo alterações significantes nos níveis séricos de Creatinina, porém diverge como valores nos níveis de Ureia sérica.

Em um estudo crônico Khairallah et al., (2017) investigaram durante 8 semanas o efeito de dietas contendo 22,5 (g%) de proteína como isolado de proteína de leite (MPI), isolado de *whey proteins* (WPI), proteína de soja Isolado (SPI), concentrado de proteína de soja (SPC) e proteína de soja tratada com enzima (SPE) sobre função muscular em 50 ratos Sprague-Dawley. Todavia, similarmente ao nosso estudo, não houve diferenças significativas na creatinina sérica entre os grupos no final do estudo. Desta forma, não foi percebido alterações nos níveis deste marcador.

Quando analisamos os dados de Ureia sérica, os resultados deste estudo apresentaram diferença significativa entre o grupo controle sedentário e quase todos os grupos suplementados, com exceção apenas de TW4, diferentemente dos achados de Aparício et al., (2014) que não identificou diferença significativa na Ureia sérica entre os grupos ao examinar os efeitos das *whey proteins* e ingestão de proteína de soja nos parâmetros renais plasmático.

O estudo de Aparício et al., (2011) que examinou os efeitos do consumo de altas doses de proteína sobre parâmetros renais em ratas não corrobora com os nossos achados, pois os grupos com dietas enriquecidas com *whey* apresentaram valores maiores de Ureia sérica em comparação com os grupos com dieta normoproteica.

Em conformidade, Nebot et al., (2014) ao examinarem os efeitos da quantidade da dieta e fonte de proteína no estado ósseo de ratos e as interações que ocorrem entre esses fatores nutricionais encontraram valores maiores de Ureia sérica nos grupos com dietas a base de *whey proteins* (45%) em comparação ao grupo normoproteico.

Entretanto, nos achados de Haraguchi et al., (2009), Franzen et al., (2016) e Santos et al., (2016) não foram observadas diferenças significativas nos valores de

Ureia sérica entre os grupos que tiveram dietas enriquecidas com *whey proteins* e os grupos com dieta padrão. Apesar dos achados divergirem dos resultados deste estudo, tanto os valores de Ureia séria quanto de Creatinina sérica permanecem dentro da faixa dos valores de referência estabelecido por Dantas et al., (2006), Lima et al., (2014) e Torres et al., (2017).

Ademais, os resultados de Creatinina de 24h proporcional a massa corporal dos ratos (mg/kg) demonstra que o grupo TW4 teve maior excreção de Creatinina por kg de peso corporal que o grupo controle treinado. No entanto, não foram apresentadas diferenças significativas entre o grupo sedentário com mesma dose, assim como entre o grupo suplementado com dose menor ( $2\text{g/kg/dia}^{-1}$ ), sendo um possível efeito do aumento da massa muscular associada a dose de  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$ .

Em relação aos biomarcadores urinários, verificamos neste estudo que os valores de Creatinina (mg/dL) apresentam diferença significativa nos grupos TW2 e TW4 com os grupos controle sedentário e controle treinado. Semelhantemente, os valores de Ureia (mg/dL) se mostram diferentes significativamente entre os grupos TW2 e TW4 com controle sedentário e entre TW2 e controle sedentário.

Porém, quando verificamos os resultados tanto de Creatinina de 24 horas quanto Ureia de 24 horas não foram encontrados resultados com diferenças significativas entre os grupos.

Similarmente, os valores de Depuração de Creatinina não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Costa et al., (2015) ao avaliar o efeito agudo da administração de um hidrolisado de *whey proteins* (WPH) sobre a manipulação de sódio renal por ratos espontaneamente hipertensos conscientes encontrou diminuição significativa na depuração da creatinina no grupo tratado com WPH em comparação com o grupo tratado com cloreto de sódio (NaCl).

Destacamos, desta forma, que não foram realizadas comparações dos biomarcadores urinários com estudos participantes da revisão da literatura pois diferentemente deste estudo, nenhum dos artigos encontrados analisaram os biomarcadores da função renal na urina.

Por fim, quando analisamos a Relação Ureia/Creatinina séricas verificamos valores significativamente menores nos grupos suplementados em relação ao grupo controle. Todavia, novamente não foi possível realizar comparações destes resultados com resultados da literatura, pois em nenhum dos estudos que compõe a revisão sistemática calculou estas variáveis.

Destaca-se desta forma, a importância dos achados de maneira a contribuir na busca da presença ou não de um limiar proteico que possa causar efeitos deletérios sobre a função renal, podendo ser indicado através da alteração dos biomarcadores investigados (ureia e creatinina).

Todavia, frente ao uso indiscriminado da *whey proteins* pela população, estudos adicionais devem ser realizados em um maior período para esta dose, bem como para doses mais elevadas com a finalidade de verificar com precisão se existe um limiar na dose desta substância que acarrete alterações e/ou efeitos colaterais na função renal de indivíduos saudáveis.



## CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos nesse estudo, pode-se sugerir que o tratamento de ratos machos *wistar* com treinamento resistido e suplementação com *whey proteins* nas doses de  $2\text{g/kg/dia}^{-1}$  e  $4\text{g/kg/dia}^{-1}$  durante 12 semanas não resultou em prejuízo de função renal, pois os valores dos biomarcadores séricos se apresentaram dentro das faixas de valores de referência. Enquanto os biomarcadores urinários, embora tenham apresentado diferença significativa entre os grupos, quando normalizados pelo volume de urina de 24h (mg/24h) foram normalizadas todas as diferenças apresentadas na Creatinina e na Ureia em mg/dL.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.L. **Dosagem de ureia e creatinina em soro humano através da técnica de espectroscopia Raman comparada com o método bioquímico.** Dissertação de Mestrado em Bioengenharia. Universidade Camilo Castelo Branco. São José dos Campos. 2014.
- ANDERSEN, M. L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G. M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P. J. F. **Procedimentos experimentais.** In: ANDERSEN, M. L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G. M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P. J. F. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. Departamento de Psicobiologia. Escola Paulista de Medicina. Universidade Federal de São Paulo. 2004.
- APARICIO, V. A.; NEBOT, E.; KAPRAVELOU, G.; SÁNCHEZ, C.; PORRES, J. M.; LÓPEZ JURADO, M.; ARANDA, P. El entrenamiento de fuerza reduce la acidosis metabólica y la hipertrofia hepática y renal consecuentes del consumo de una dieta hiperproteica en ratas. **Nutr Hosp.** v. 26. n. 6. p. 1478-1486. 2011.
- APARICIO, V. A.; NEBOT, E.; TASSI, M.; CAMILETTI-MOIRÓN, D. SANCHEZ-GONZALEZ, C.; PORRES, J. M.; ARANDA, P. Whey Versus Soy Protein Diets and Renal Status in Rats. **J Med Food.** v. 17. p. 9. p. 1011–1016. 2014.
- ARAÚJO, L. R.; ANDREOLO, J.; SILVA, M. S. Utilização de suplemento alimentar e anabolizante por praticantes de musculação nas Academias de Goiânia-GO. **Revista Brasileira Ciência e Movimento.** v.10. n. 3 p.13-18. 2002.
- ATHIRA, S.; MANN, B.; SHARMA, R.; KUMAR, R. Ameliorative potential of whey protein hydrolysate against paracetamol-induced oxidative stress. **Journal of Dairy Science.** v. 96. n. 3. p. 1431-1437. 2013.
- BAUDRILLARD, J. **A sociedade de consumo.** Lisboa. Edições 70. p.47,135-137, 2003.
- CONCEA. **Conselho nacional de controle de experimentação animal:** Resolução normativa nº25 de 29 de setembro de 2015. Ministério da ciência tecnologia e inovação. 2015.
- CHAN, A. Y.; CHENG, M. L.; KEIL, L. C.; MEYERS, B. D. Functional response of healthy and diseased glomeruli to a large, Proteins-rich meal. **Journal of Clinical Investigation.** v. 81. n. 1. p. 245. 1988.
- CHEN, W. C.; WEN-CHING, H.; CHIEN-CHAO, C.; YU-KAI C.; CHI-CHANG, H. Whey Protein Improves Exercise Performance and Biochemical Profiles in Trained Mice. **Medicine & Science in Sports & Exercise.** n. 250. p. 1518-1524. 2014.
- CRIBB, P. J. US Whey Proteins in sports nutrition. Applications Monograph Sports Nutrition. US Dairy Export Council. v. 4. p. 1-12. 2005.
- DANTAS, J. A.; AMBIEL, C. R.; CUMAN, R. K. N.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, C. A. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério

Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Sci. Health Sci.** v. 28. n. 2. p. 165-170. 2006.

DUSSE, L. M. S.; RIOS, D. R. A.; SOUSA, L. P. N.; MORAES, R. M. M. S.; DOMINGUETI, C. P.; GOMES, K. B. Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente? **RBAC.** v. 49. n. 1. p. 41-51. 2016.

FRANZEN, J. M.; VAZ, J. G.; ZANCANARO, V.; BITENCOURT, R. M. Baixa dose de whey protein reduz glicose, triglicérides e controla o peso corporal em ratos wistar. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento.** v.10. n.57. p.133-144. 2016.

GORAYA, N.; WESSON, D. E. Dietary management of chronic kidney disease: Proteins restriction and beyond. **Current opinion in nephrology and hypertension,** v. 21. n. 6. p. 635-640. 2012.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição.** v. 19. n. 4. p. 479-488. 2006.

HARAGUCHI, F. K.; PEDROSA, M. L.; PAULA, H.; SANTOS, R. C.; SILVA, M. E. Influência das proteínas do soro sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea de ratos hipercolesterolêmicos. **Revista de Nutrição.** v. 22. n. 4. p. 517-525. 2009.

HORNBERGER, T. A. JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology.** v. 29. p. 16-31. 2004.

HORNBERGER, T. A. J. R.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology,** Champaign. v. 29. p. 16-31. 2004.

KHAIRALLAH, R. J.; O'SHEA, K. M.; WARD, C. W.; BUTTEIGER, D. N.; MUKHERJEA, R.; KRUL, E. S. Chronic dietary supplementation with soy protein improves muscle function in rats. **PLoS One.** v. 12. n. 12. p. 1-13. 2017.

KRISSANSEN, G. W. Emerging health properties of Whey Proteinss and their clinical implications. **Journal of the American College of Nutrition.** v. 26. n. 6. p. 713-723. 2007.

LEARY, S.; UNDERWOOD, W.; ANTHONY, R.; CARTNER, S.; COREY, D.; GRANDIN, T.; GREENACRE, C.; GWALTNEY-BRANT, S.; MCCRACKIN, M. A.; MEYER, R.; MILLER, D.; SHEARER, J.; YANONG, R. **AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals.** American Veterinary Medical Association. Version 2013.

LEITE, R. D.; DURIGAN, R. C. M. LINO, A. D. S.; CAMPOS, M. V. S.; SOUZA, M. G. S.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S.; BOUSKELA, E.; KRAEMER-AGUIAR, L. G. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and

muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. **Metabolism-Clinical and Experimental**. v. 62. n. 10. p. 1477-1484. 2013.

LIMA, C. M.; LIMA, A. K.; MELO, M. G. D.; DÓRIA, G. A. A.; LEITE, B. L. S.; SERAFINI, M. R.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; ARAÚJO, A. A. S. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena**. v. 10. n. 1. p. 1-9. 2014.

LOLLO, P. C. B.; SILVA, L. B. C.; BATISTA, T. M.; MORATO, P. N.; MOURA, C. S.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. CARNEIRO, E. M.; AMAYA-FARFAN, J. Effects of whey protein and casein plus leucine on diaphragm the mTOR pathway of sedentary, trained rats. **Food Research International**. v. 49. p. 416-424. 2012.

MARTIN, W. F.; ARMSTRONG, L. E.; RODRIGUEZ, N. R. Dietary Proteins Intake and Renal Function. **Clinical Nutrition: The Interface Between Metabolism, Diet, and Disease**. p. 121, 2013.

NEBOT, E.; ERBEN, R. G.; PORRES, J. M.; FEMIA, P.; CAMILETTI-MOIRÓN, D.; ARANDA, P.; LÓPEZ-JURADO, M.; APARICIO, V. A. Effects of the amount and source of dietary protein on bone status in rats **Food Funct**. v. 5. p. 716–723. 2014.

PEREIRA, R. F.; LAJOLO, F. M. HIRSCHBRUCH, M. D. Consumo de suplementos pelos alunos de academias em São Paulo. Campinas: **Revista de Nutrição**. p.265-272. 2003.

ROMÃO J. J.; PINTO S. W. L.; CANZIANI M. E.; PRAXEDES J. N.; SANTELLO J. L.; MOREIRA J. C. M. Censo SBN 2002: Informações epidemiológicas das unidades de diálise do Brasil. **J Bras nefrol**. Vol. 25. p. 188-199. 2003.

SANTESSO, N.; AKL, E. A.; BIANCHI, M.; MENTE, A.; MUSTAFA, R. HEELS-ANSDELL, D.; SCHÜNEMANN, H. J. Effects of higher-versus lower-Proteins diets on health outcomes: a systematic review and meta-analysis. **European journal of clinical nutrition**. v. 66. n. 7. p. 780-788. 2012.

SANTOS, A. C. A.; MARTINS, M. C. C.; PEREIRA, L. A. C.; BARROS, N. S.; CARVALHO, M. L. Efeitos da Suplementação Alimentar com *Whey Protein* e Leucina em Ratos Normais. **J Health Sci**. v. 18. n. 2. p. 121-128. 2016.

SBCAL/COBEA. **Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório**. 2012. Disponível em: <<http://www.cobea.org.br>>.

SILVA, E. I. V.; SOUSA, L. N. C.; ROCHA, A. A. Biomarcadores renais e sua importância no diagnóstico de nefropatias. **Revista Científica da FASETE**. p. 162-176. 2017.

SIMON, A. H.; LIMA, P. R.; ALMERINDA, M.; ALVES, V. F.; BOTTINI, P. V.; DE FARIA, J. B. Renal haemodynamic responses to a chicken or beef meal in normal individuals. **Nephrology Dialysis Transplantations**. v. 13. n. 9. p. 2261-2264. 1998.

SODRÉ, F. L.; COSTA, B. C. J.; LIMA, C. C. J. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **J Bras Patol Med Lab.** v. 43. n. 5. p. 329-337. 2007.

STEVENS, L. A.; LEVEY, A. S. Measurement of kidney function. **Med Clin North Am.** v. 89. n. 3. p. 457-73. 2005.

TANG, J. E.; PHILLIPS, S. M. Maximizing muscle Proteins anabolism: the role of Proteins quality. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care.** v.12. n. 1. p. 66-71. 2009.

TIRAPEGUI, J.; MENDES, R.R. Suplementação de b-hidroxi b-metilbutirato (HMB) e ganho de massa muscular. São Paulo: **Revista Nutrição em Pauta.** v. 13. n. 1. p. 177-196. 2001.

TOGASHI, Y.; MIYAMOTO, Y. Urinary cystatin C as a biomarker for diabetic nephropathy and its immunohistochemical localization in kidney in Zucker diabetic fatty (ZDF) rats. **Experimental and Toxicologic Pathology.** v. 65. n. 5. p. 615-622. 2013.

TORRES, L. V.; RODRIGUES, D. H. A.; CARLOS, L. E.; SARMENTO, T. A. B.; ABRANTES, V. E. F. Padronização dos valores de referência de marcadores hepáticos e renais em ratos fêmeas da linhagem wistar provenientes do biotério da faculdade santa maria. **Revista Interdisciplinar em Saúde.** v. 4. n. 1. p. 171-179. 2017.

VAN DEN BERG, E.; HOSPERS, F. A.; NAVIS, G.; ENGBERINK, M. F.; BRINK, E. J.; GELEIJNSEN, J. M.; VAN BAAK, M. A.; GANS, R. O.; BAKKER, S. J. Dietary acid load and rapid progression to endstage renal disease of diabetic nephropathy in Westernized South Asian people. **Group.** v. 9. p. 10. 2011.

VIBERTI, G.; BOGNETTI, E.; WISEMAN, M. J.; DODDS, R.; GROSS, J. L.; KEEN, H. Effect of Proteins-restricted diet on renal response-to a meat meal in humans. **American Journal of Physiology-Renal Physiology.** v. 253. n. 3. p. 388-393. 1987.

VIDIGAL, P. G. Investigação laboratorial do paciente com disfunção renal. In: Erichsen E, Viana L. G, Faria R. M. D, Santos S. M. E. **Medicina Laboratorial para o Clínico.** p. 439-468. 2009.

XIA, Z.; CHOLEWA, J.; ZHAO, Y.; YANG, Y. Q.; SHANG, H. Y.; GUIMARÃES-FERREIRA, L.; NAIMO M. A.; SU, Q. S.; ZANCHI, N. E. Hypertrophy-Promoting Effects of Leucine Supplementation and Moderate Intensity Aerobic Exercise in Pre-Senescent Mice. **Nutrients.** v. 8. n. 5. p. 246. 2016.