

**ESTUDO DO EFEITO DA PROTEÍNA DO SORO DO LEITE (*WHEY PROTEIN*)  
SOBRE OS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS DE  
CAMUNDONGOS SEDENTÁRIOS EM PROTOCOLO DE RAÇÃO MODIFICADA.**

**Lucas Maia Pereira<sup>1</sup>**

**Jamile Magalhães Ferreira<sup>2</sup>**

**RESUMO**

O uso de suplementos nutricionais relacionados à atividade física é destinado para atletas, como estratégia complementar à alimentação saudável, quando esta é insuficiente para atender às demandas do exercício. No entanto, nos últimos anos, houve uma massificação do uso de suplementos alimentares, com as mais diversas finalidades, por pessoas comuns que se consideram fisicamente ativas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os parâmetros bioquímicos e hematológicos de camundongos sedentários submetidos à suplementação oral com proteína do soro do leite (*whey protein*) na ração. No protocolo de ração suplementada com *whey protein*, os animais foram divididos nos grupos (n=8): controle negativo (CN) que recebeu ração padrão e grupos testes que receberam ração modificada acrescida de proteína do soro do leite (PSL) nas concentrações de 10%, 15% e 20%, sendo os animais alimentados com as rações descritas por 30 dias. Os resultados obtidos foram tabulados e plotados nos programas Prism 5.0 e Excel 2013<sup>®</sup> para análise estatística e geração de gráficos. Os dados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média. Para comparação entre as médias utilizou-se a análise de variância seguida de pós-teste de Tukey, utilizando-se como critério de significância  $p < 0,05$ . Os protocolos descritos foram devidamente submetidos à Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará. Os resultados obtidos revelaram que as hemácias, a hemoglobina, o hematócrito e as plaquetas não sofreram alterações significativas, mas os leucócitos do grupo PSL 20% tiveram uma redução importante. Além disso, com relação aos parâmetros bioquímicos, a glicose, o colesterol total e as proteínas totais foram avaliadas e nenhum dos parâmetros descritos foi alterado de forma significativa com a ingestão de PSL nas concentrações 10%, 15% e 20%, assim como também a enzima AST não evidenciou alterações consideráveis nas diferentes concentrações de *whey protein*. Entretanto, os triglicerídeos, a ALT, a ureia, a creatinina e a albumina apresentaram alterações significativas, principalmente na concentração de PSL 20%. O peso do fígado dos camundongos sedentários também sofreu alterações após o período do experimento, com possível relação ao dano hepático causado pelo aumento do consumo da proteína do soro do leite. Assim, é válido ressaltar que ainda existem muitas dúvidas sobre os efeitos que a proteína do soro do leite pode promover sobre todo o organismo, inclusive sobre os seus efeitos nos indicadores hematológicos e bioquímicos, sendo necessários que hajam mais estudos sobre essa temática, além de comprovar a necessidade e importância desse estudo, visando a busca de mais informações que possam contribuir para a saúde de toda a sociedade.

**Palavras-chave:** Camundongos. Proteína do soro do leite. Ração modificada.

---

<sup>1</sup> Graduando em Enfermagem da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro Brasileira – UNILAB, Redenção, CE, Brasil. E-mail: lucmaiace@outlook.com

<sup>2</sup> Farmacêutica. Doutora em biotecnologia. Docente da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB. E-mail: jamilemagalhaes@unilab.edu.br

# **STUDY OF THE WHEY PROTEIN EFFECT ON THE BIOCHEMICAL AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF SEDENTARY MICE IN MODIFIED FEED PROTOCOL.**

**Lucas Maia Pereira<sup>1</sup>**

**Jamile Magalhães Ferreira<sup>2</sup>**

## **ABSTRACT**

The use of nutritional supplements related to physical activity is intended for athletes, as a complementary strategy to healthy eating, when this is insufficient to meet the demands of exercise. However, in recent years, there has been a widespread use of dietary supplements, with the most diverse purposes, by ordinary people who consider themselves physically active. The aim of the present study was to evaluate the biochemical and hematological parameters of sedentary mice submitted to oral supplementation with whey proteins in the feed. In the diet protocol supplemented with whey protein, the animals were divided into groups (n = 8): negative control (NC) that received standard diets and test groups that received modified diets plus whey protein (PSL) in the concentrations of 10%, 15% and 20%, the animals being fed with the rations described for 30 days. The results obtained were tabulated and plotted in the programs Prism 5.0 and Excel 2013® for statistical analysis and graph generation. The data were expressed as mean pattern standard error of the mean. For comparison between the averages, analysis of variance followed by Tukey's post-test was used, using  $p < 0.05$  as the significance criterion. The protocols described were duly submitted to the Animal Research Ethics Committee of the Federal University of Ceará. The results obtained revealed that the erythrocytes, hemoglobin, hematocrit and platelets did not suffer significant changes, but the leukocytes of PSL 20% had an important reduction. In addition, with respect to biochemical parameters, glucose, total cholesterol and total proteins were evaluated and none of the described parameters were significantly altered with the ingestion of PSL at concentrations of 10%, 15% and 20%, as well as the AST enzyme did not show considerable changes in the different concentrations of whey protein. However, triglycerides, ALT, urea, creatinine and albumin showed significant changes, mainly in PSL 20% concentration. The liver weight of sedentary mice also changed after the experiment, with possible relation to liver damage caused by increased consumption of whey protein. Therefore, it is worth noting that there are still many doubts about the effects that whey protein can promote on the whole organism, including on its effects on hematological and biochemical indicators, requiring further studies on this topic, in addition to prove the need and importance of this study, aiming at the search for more information that can contribute to the health of the whole society.

**Keywords:** Mice. Whey protein. Modified feed.

---

<sup>1</sup> Graduando em Enfermagem da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro Brasileira – UNILAB, Redenção, CE, Brasil. E-mail: lucmaiace@outlook.com

<sup>2</sup> Farmacêutica. Doutora em biotecnologia. Docente da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB. E-mail: jamilemagalhaes@unilab.edu.br

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>2 METODOLOGIA .....</b>	<b>10</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>20</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O corpo humano sempre foi muito simbólico, por isso sofreu transmutações durante o decorrer da história da humanidade como uma forma de caracterização, de adequação e de imposição social (ARAÚJO, *et al.*, 2018). Essa mudança corporal está estacionada hoje no corpo mais esguio, definido e hipertrofiado, considerado “boa forma”, o qual é livre de gorduras indesejadas. Todas essas mudanças hoje são lançadas continuamente nos meios de comunicação, afetando principalmente a população com sobrepeso, pois esses encontram-se mais longe do ideal preconizado (BARBOSA; SILVA, 2016).

É importante evidenciar que o aumento dos fatores estressores na sociedade favorece o alto consumo de alimentos pouco nutritivos que, associado ao sedentarismo, provocaram um aumento no número de casos de obesidade em todo o mundo. Em 2016, mais de 1,9 bilhão de pessoas já possuíam excesso de peso, e 650 milhões desses já possuíam algum tipo de obesidade (PINTO *et al.*, 2020).

Pode-se observar, através da propagação exponencial da internet e redes sociais, que os suplementos alimentares ocupam um lugar de destaque, modelando o conceito de corpo perfeito e de como alcançá-lo. Contudo, essa divulgação e afirmação do modelo físico ideal juntamente com a divulgação maciça de receitas, dietas e substâncias que prometem ajudar a alcançar esse ideal mais rapidamente, promovem uma busca implacável e não orientada por um profissional especializado, e estimulando que os usuários utilizem qualquer substância, ao custo de colocar suas vidas em risco (BARBOSA; SILVA, 2016).

Em associação ao que foi mencionado, também é válido ressaltar que o uso abusivo de substâncias, seja ela para ajudar no emagrecimento ou para melhorar a massa muscular, estão em crescimento na sociedade, pois a automedicação é historicamente comum em países em desenvolvimento como o Brasil, onde o acesso ao consultório médico ou consultório de um nutricionista é mais difícil e a prescrição ou indicação de substâncias por terceiros é altamente disseminada, ocasionando mortes ou agravos na saúde da população, como alergias, intoxicações, maior resistência bacteriana, dentre outros (DUTRA; SOUZA; PEIXOTO, 2015).

Dentre essas substâncias, os suplementos nutricionais ou alimentares são os mais utilizados, surgiram há pelo menos oito décadas e são definidos como produtos de ingestão oral, sendo desenvolvida em formas farmacêuticas, para suplementar a alimentação de pessoas saudáveis, contendo em sua fórmula substâncias bioativas, nutrientes, probióticos ou enzimas, combinados ou isolados (BRASIL, 2018).

Também podem ser denominados como substâncias adicionadas à dieta principalmente: vitaminas, minerais, ervas e botânicos, aminoácidos, metabólicos, constituintes, extratos ou combinações de qualquer desses ingredientes, com os objetivos principais de complementar a dieta, suprindo as necessidades nutricionais dos indivíduos ou agindo como recurso ergogênico (FERREIRA; SANTOS; VIEBIG, 2015).

Inicialmente, estes eram utilizados com o objetivo de complementar uma determinada deficiência dietética, sendo os benefícios restritos a um pequeno grupo de pessoas, aí incluídos atletas de alto rendimento. No entanto, nos últimos anos, houve uma massificação do uso de suplementos alimentares, com as mais diversas finalidades, tanto por pessoas comuns que se consideram fisicamente ativas, como por sedentários (SOUZA *et al.*, 2014).

A aquisição através das lojas virtuais e as propagandas nas mídias promovem grande impacto no público. Somente entre os anos de 2010 e 2016, o aumento no consumo de suplementos alimentares foi de 233%, com um faturamento de 1,49 bilhão de reais, o que transforma esse aumento abrupto do consumo dessas substâncias um alerta para a saúde pública, causando inclusive efeitos adversos, danos hepáticos e óbitos (MOLIN *et al.*, 2019).

Em 2018, a Anvisa, em uso de suas atribuições legais, aprovou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 243/2018, tornando-se um marco regulatório no país e realizando a definição dos requisitos sanitários dos suplementos alimentares. Os aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia também foram estabelecidos pela Anvisa, sendo autorizados para o uso em suplementos alimentares por meio da RDC nº 239, de 26 de julho de 2018. A regularização dos vários produtos disponíveis no mercado normatiza as diretrizes legais desde mudanças nas informações contidas nos rótulos até algumas alterações em suas composições, sendo oferecido um prazo de adequação de cinco anos (BRASIL, 2018).

Dentre os suplementos alimentares disponíveis no mercado, os preparados proteicos são os mais consumidos, principalmente a albumina e as proteínas do soro do leite (FERREIRA *et al.*, 2016). As proteínas do soro do leite, também conhecidas como *whey proteins*, são obtidas após a extração da caseína do fabrico do queijo a partir do leite desnatado, possuindo alto valor nutricional e grande quantidade de aminoácidos essenciais e de cadeia ramificada. Para serem classificadas e consideradas como suplementos proteicos, as *whey proteins* devem atender aos seguintes requisitos: o produto pronto para consumo deve conter, no mínimo, 10 g de proteína na porção e conter, no mínimo 50% do valor energético total proveniente das proteínas. (BRASIL, 2010).

As proteínas do soro de leite são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais a tal ponto que alguns

pesquisadores classificaram essas proteínas como proteínas de metabolização rápida (*fastmetabolizingproteins*), muito adequadas para situações de estresses metabólicos em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial (SOUZA *et al.*, 2014).

Disponibilizada sob a forma de pó, a proteína soro do leite pode ser diluída com água ou leite, na dose média de 30 g/dia, pela manhã, em jejum ou logo após a atividade física. É fato que as necessidades proteicas são diferentes para indivíduos sedentários e para praticantes de exercícios com peso. Isso se deve ao fato de o exercício intenso aumentar a excreção de nitrogênio e quando as ingestões proteicas e energéticas são insuficientes, diminui o balanço nitrogenado, tornando-o negativo, o que é indesejado para atletas ou praticantes de atividade física regular (TERADA *et al.*, 2009).

Os efeitos biológicos atribuídos à proteína do soro do leite resultam do aumento da síntese proteica muscular, redução da gordura corporal em função do seu alto teor de cálcio, além da alta concentração de glutatona, que diminui a ação dos agentes oxidantes nos músculos esqueléticos. Some-se a isso o aumento da concentração de insulina plasmática, favorecendo a captação de aminoácidos para o interior da célula muscular (HARAGUSHI; ABREU; PAULA, 2006; CALBET; MACLEAN, 2002)

Em experimentos realizados em modelos animais com obesidade induzida pelo aumento de gordura na dieta, demonstraram que a suplementação com *whey protein* reduziu o ganho de gordura e melhorou a intolerância à glicose, a sensibilidade à insulina, bem como reduziu os níveis de colesterol total (TRANBERG *et al.*, 2013).

Tem-se descrito na literatura que o aumento da quantidade de proteínas na dieta, além das recomendações previstas para pessoas fisicamente ativas, não leva ao aumento adicional da massa magra, podendo a proteína ser utilizada como combustível energético e ocasionando acúmulo de amônia, que pode sobrecarregar a função renal (PEDROSA; DONATO JUNIOR; TIRAPEGUI, 2009). Apesar da ausência de evidências de que a suplementação proteica possa prejudicar a função renal (POORTMANS; DELLALIEUX, 2000), um consumo excessivo pode interferir no metabolismo proteico quando ingerido em excesso.

De acordo com Pereira, Lajolo e Hirschbruch citados por Kantikas (2007) observa-se que nem sempre se procura profissionais da área de nutrição para orientação e acompanhamento, sendo que o mais comum são indicações variadas, ou mesmo a simples procura na internet ou em lojas de suplementos. Se esta prática é decidida e feita por conta própria, os consumidores não levam em conta as possibilidades, por exemplo, do aparecimento de problemas hepáticos e renais.

O excesso de ingestão proteica pode, ainda, aumentar a produção de ureia, causar cólica abdominal e diarreia, além de aumentar o risco de desidratação. Além disso, como a proteína é a principal fonte de produção ácida endógena através da excreção de sulfato, essa produção aumentada pode influenciar negativamente a densidade mineral óssea, se não for balanceada com uma dieta adequada (ALVES; LIMA, 2009)

Dessa forma, os efeitos colaterais associados ao uso destes produtos por longos períodos, tanto em doses terapêuticas quanto supra fisiológicas, ainda são desconhecidos (IRIART; CHAVES; ORLEANS, 2009). Entretanto, as consequências mais documentadas são de natureza endócrina e reprodutiva; musculo esquelética; psicológica e hepática, além da modificação de parâmetros que aumentam o risco do desenvolvimento de doenças cardiovasculares: aumento nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), colesterol e uma diminuição nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) (FERREIRA *et al.*, 2007).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os parâmetros bioquímicos e hematológicos de camundongos sedentários submetidos à suplementação oral com proteína do soro do leite (*whey protein*) na ração. Diante do exposto, a realização dos experimentos descritos em animais poderá contribuir sobremaneira para a identificação de possíveis alterações, através dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de camundongos sedentários submetidos à suplementação oral com proteínas do soro do leite (PSL) na ração, que podem ser induzidas com o uso crônico da proteína do soro do leite bem como avaliar seu possível efeito sobre o metabolismo glicêmico e lipídico nesses animais. Ademais, estudos envolvendo animais de laboratórios são de grande relevância, pois fornecem informações acerca do que pode ser visualizado em humanos.

## 2 METODOLOGIA

Utilizaram-se camundongos *swiss* albinos, adultos, machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno, aclimatizados entre  $22 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , com ciclos de claro/escuro de 12 em 12h e circulação de ar controlados, recebendo ração padrão e água *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos (n=8): controle negativo (CN) e proteína do soro do leite (PSL) nas concentrações de 10%, 15% e 20%.

As concentrações foram calculadas baseadas nos dados descritos na literatura em relação ao percentual diário de consumo de proteínas. Segundo Tirapegui e Mendes (2005), as proteínas são necessárias na formação, no crescimento e no desenvolvimento de tecidos

corporais, na formação de enzimas que regulam a produção e a geração de energia, sobretudo quando os estoques de carboidratos estão baixos. Estas devem estar presentes na alimentação diária na faixa de 10% a 15% das calorias totais. Dessa forma, os percentuais de proteínas do soro do leite incorporados na ração modificada foram 10% (PSL 10%), 15% (PSL 15%) e 20% (PSL 20%).

O grupo CN recebeu ração padrão e água, enquanto que os grupos PSL realizaram a ingestão de uma ração modificada acrescida de proteína do soro do leite nos percentuais descritos acima, durante 30 dias.

A produção da ração foi realizada no laboratório de farmacotécnica com a colaboração do Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca da Universidade Federal do Ceará. Primeiramente, foi adquirida uma ração própria para camundongo. Em seguida, essa ração foi inserida aos poucos em um equipamento para que a mesma fosse triturada grosseiramente. Posteriormente, a ração triturada passou por um moinho pulverizador com malha de 0,5 micrometros, obtendo-se um pó fino da ração.

Após a segunda etapa da trituração, a ração foi para uma espécie de batadeira planetária industrial, onde foi acrescido à ração padrão previamente triturada, a proteína do soro do leite e carboximetilcelulose, sendo essa última adicionada para dar consistência à ração modificada. Depois de todo esse processo, essa mistura foi para uma máquina de extrusão, na qual a nova ração foi compactada para, posteriormente, ser fornecida para os camundongos. Após a confecção da ração modificada, a mesma ainda ficou em estufa de secagem, para a retirada de umidade.

Com o intuito de saber o efeito da proteína do soro do leite na ausência de atividade física, ressalta-se que todos os animais eram sedentários. Ao final do período de 30 dias, foi realizada coleta sanguínea através do plexo retro orbital, mediante realização de jejum de sólidos de 6-8h. Após esse processo, foram analisados os seguintes parâmetros hematológicos: número de hemácias, número de leucócitos, número de plaquetas, hemoglobina e hematócrito. Depois, foram analisados os seguintes parâmetros bioquímicos: glicose, colesterol total, triglicerídeos, Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), ureia, creatinina, proteínas totais e albumina.

Para a obtenção dos resultados e análise dos parâmetros laboratoriais hematológicos, utilizou-se cerca de 1,0mL sangue coletados em microtubos do tipo Ependorff® com 20µL de EDTA. Os resultados foram tabulados e plotados nos programas GraphpadPrism 5.0 e Microsoft Office Excel 2013® para análise estatística e geração de gráficos. Os valores obtidos foram expressos em média±erro padrão médio (E.P.M.). Para

comparação entre as médias utilizou-se a análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Tukey. O critério de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

Para a obtenção dos resultados e análise dos parâmetros laboratoriais bioquímicos, utilizou-se cerca de 1,0mL sangue coletados em microtubos do tipo Ependorff<sup>®</sup> com 20 $\mu$ L de heparina sódica (500UI/mL). As amostras ficaram em repouso por no mínimo meia hora e no máximo 2 horas, antes da centrifugação que foi realizada a 3500rpm, durante 15 minutos. Assim, utilizou-se o plasma obtido da coleta para realização dos exames bioquímicos dos animais.

Os resultados das determinações bioquímicas foram tabulados e plotados nos programas GraphpadPrism 5.0 e Microsoft Office Excel 2013<sup>®</sup> para análise estatística e geração de gráficos. Os valores obtidos foram expressos em média $\pm$ erro padrão médio (E.P.M.). Para comparação entre as médias utilizou-se a análise de variância, seguida de pós-teste de Tukey. O critério de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

Todos os procedimentos adotados para a realização dos protocolos experimentais descritos estão de acordo com os preceitos éticos adotados pela comunidade científica nacional e internacional. De acordo com as normas exigidas para estudos com animais, o protocolo descrito foi devidamente submetido à Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará e aprovado com o número 03/2017. Após a coleta de sangue dos camundongos, os mesmos foram sacrificados e, posteriormente, utilizando-se técnicas cirúrgicas e de dissecação foram retirados os órgãos fígado e rins.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A primeira etapa realizada foi a produção da ração modificada, que após a trituração da ração padrão e, posterior acréscimo de carboximetilcelulose e proteína do soro do leite, obteve-se uma ração muito semelhante à original. Portanto, pode-se dizer que a confecção da ração modificada foi realizada com êxito, obtendo uma forma e textura muito semelhante à ração padrão ingerida pelos camundongos o que, certamente, facilitou sua aceitação pelos animais.

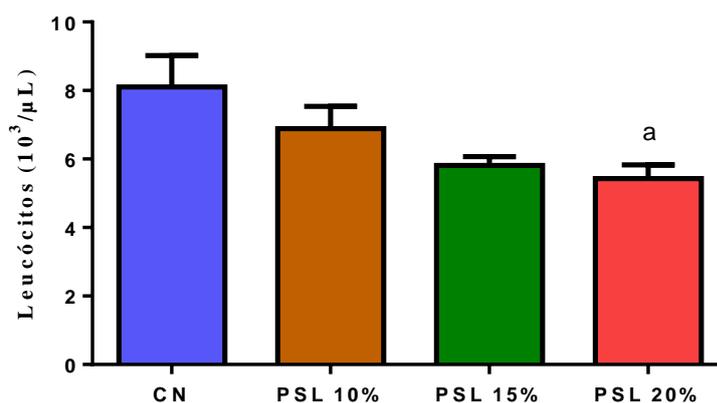
Nos resultados dos parâmetros hematológicos, observou-se que a suplementação oral com ração modificada acrescida da proteína do soro do leite, por 30 dias, não promoveu alterações significativas do número de hemácias, valor de hemoglobina, de hematócrito e de plaquetas.

Nenhum estudo comprova de forma fidedigna a influência direta que a PSL, em qualquer concentração, possa alterar na biodisponibilidade ou funcionalidade das hemácias, das plaquetas, do hematócrito ou da hemoglobina, porém já é de conhecimento que o exercício físico intenso tende a promover um maior estresse oxidativo, ocasionando uma redução no número de eritrócitos algumas horas após o exercício. Além disso, hemoglobina e hematócrito podem sofrer também com a variabilidade individual, assim como também associado a intensidade do estímulo físico empregado. Entretanto, alguns estudos têm evidenciado que o consumo de PSL, seja em sedentários ou não, promove uma redução na oxidação das hemácias, principalmente por aumentar os níveis intracelulares de glutathiona, que tem sido apontada como uma redutora do estresse oxidativo no organismo (COSTA, 2010).

Em vista disso, acredita-se que os valores de hemácias, de hemoglobina, de hematócrito e de plaquetas não tenham sofrido alterações por causa da falta do estímulo estressor nos camundongos, que no caso seria o exercício físico.

Entretanto, o grupo de animais que recebeu PSL 20% apresentou uma redução de 33,08% (CN:  $8,10 \pm 0,91$  vs PSL 20%:  $5,42 \pm 0,40$ ) do número de leucócitos em relação ao grupo controle (Figura 1).

**Figura 1:** Número de leucócitos após ingestão da ração modificada acrescida da proteína do soro do leite (PSL) ou ração padrão, por 30 dias. CN: controle negativo, PSL 10%: proteína do soro do leite 10%, PSL 15%: proteína do soro do leite 15%, PSL 20%: proteína do soro do leite 20%, a:  $p < 0,05$  em relação ao grupo CN. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (ANOVA-Turkey).



Fonte: Autoria própria.

Alguns estudos têm atribuído efeitos imunomoduladores à proteína do soro do leite (MARSHALL, 2004; CARRILHO, 2013). Todavia, nenhuma pesquisa é unânime com relação aos leucócitos, pois testes feitos antes e após exercícios físicos em alguns estudos não relataram alteração na contagem de leucócitos, mas outros estudos também demonstram uma redução dos

leucócitos em ratos sedentários, em contrapartida a ratos que praticam atividade física, porém o mecanismo que envolve na depressão do sistema imune ainda não está muito bem esclarecido. Dessa forma, acredita-se que o motivo do número de leucócitos dos animais que receberam PSL 20% tenha reduzido pelo fato da PSL ser vinte vezes menos ativa que a forma não hidrolisada, sendo deletéria para o estímulo imune (COSTA, 2010).

Em relação aos parâmetros bioquímicos, a glicose, o colesterol total e as proteínas totais foram avaliadas e nenhum dos parâmetros descritos foram alterados de forma significativa com a ingestão de PSL nas concentrações 10%, 15% e 20%. A proteína do soro do leite incorporada na ração não foi capaz de melhorar os níveis plasmáticos de glicose, colesterol total e proteínas totais nas concentrações e períodos de tratamentos estudados. Em relação à função hepática, não foi observada diferença na atividade da enzima hepática AST.

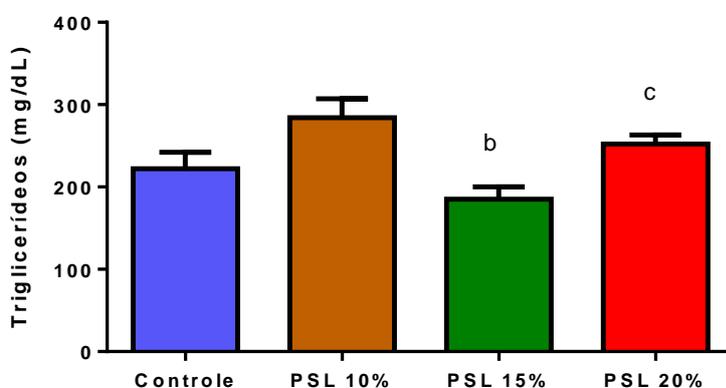
Os metabolismos glicêmico e lipídico foram avaliados pelas determinações bioquímicas triglicerídeos, glicose e colesterol total. Nenhum dos dois últimos parâmetros descritos foram alterados de forma significativa com a ingestão de PSL nas concentrações 10%, 15% e 20%. Experimentos realizados em modelos animais com obesidade induzida pelo aumento de gordura na dieta, demonstraram que a suplementação com *whey protein* reduziu o ganho de gordura e melhorou a intolerância à glicose, a sensibilidade à insulina, bem como reduziu os níveis de colesterol total (TRANBERG *et al.*, 2013).

Contudo, a PSL incorporada na ração não foi capaz de melhorar os níveis plasmáticos de glicose, colesterol total e triglicerídeos nas concentrações e períodos de tratamentos estudados. Tal resultado pode ter sido distinto de os descritos na literatura pelo fato de os animais utilizados estarem em condições normais, ou seja, sem nenhuma alteração metabólica prévia, e sem essa alteração metabólica provocada pelo exercício, não há uma mudança em tais parâmetros (COSTA, 2010).

Não foi observada diferença na atividade de AST. A enzima AST é uma enzima encontrada em maior quantidade nas mitocôndrias, não sendo liberada tão rápido como a ALT, que é encontrada no citosol. A AST está presente em um grande número de tecidos, como coração, fígado, músculo esquelético, rins e pâncreas. (AL-HABORI; STAHMANN, 2002). Uma possível causa da estabilização da AST seja a sua menor especificidade com relação ao dano hepático, quando comparada a ALT, no qual poderia ser sugerido uma maior duração do experimento para averiguar se há alteração ou não a longa exposição a PSL. Com relação as proteínas, também não se observou alteração das proteínas totais de ratos sedentários para os praticantes de atividade física após a ingestão de PSL, mas sem comprovação do mecanismo de funcionamento. (COSTA, 2010).

Com relação aos níveis plasmáticos de triglicerídeos, pode-se observar uma redução de 34,80% (PSL 10%:  $284,2 \pm 22,83$  vs PSL 15%:  $185,3 \pm 15,02$ ) da PSL 15% em comparação aos resultados da PSL 10%. Além disso, também houve um aumento de 36,05% (PSL 15%:  $185,3 \pm 15,02$  vs PSL 20%:  $252,1 \pm 10,96$ ) do valor de PSL 15% em relação a PSL 20% (Figura 2).

**Figura 2** - Níveis plasmáticos de triglicerídeos após ingestão da ração modificada acrescida da proteína do soro do leite (PSL) ou ração padrão, por 30 dias. CN: controle negativo, PSL 10%: proteína do soro do leite 10%, PSL 15%: proteína do soro do leite 15%, PSL 20%: proteína do soro do leite 20%, onde b:  $p < 0,05$  em relação ao grupo PSL 10%, c:  $p < 0,05$  em relação ao grupo PSL 15%. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (ANOVA-Turkey).

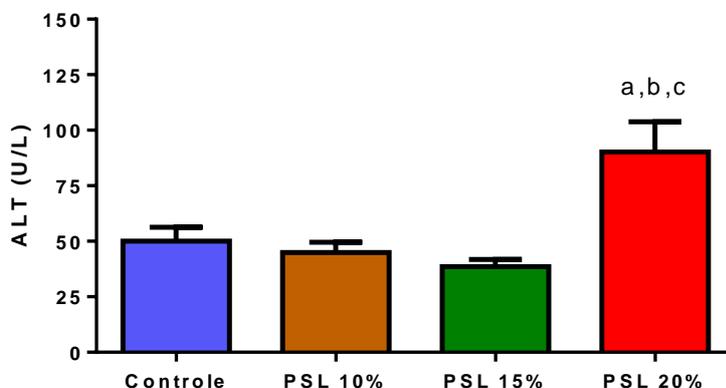


Fonte: Autoria própria.

As informações a respeito da função que a PSL em variadas concentrações promove na diminuição, aumento ou controle de triglicerídeos ainda é bastante inconsistente. Alguns estudos feitos com a suplementação da ração de camundongos com 10% de PSL também evidenciaram uma redução nos níveis de triglicerídeos, mas o mecanismo que envolve essa redução ainda não está elucidado. Entretanto, doses bem maiores de PSL (50%), promoveram uma redução dos níveis plasmáticos somente do colesterol total, não ocasionando redução dos demais padrões lipídicos (FRANZEN *et al.*, 2016).

Foi possível observar que ocorreu um aumento de 80,34% (CN:  $50,00 \pm 6,32$  vs PSL 20%:  $90,17 \pm 13,59$ ) da atividade enzimática da ALT na PSL 20% em relação ao CN. Também foi observado um aumento de 100,91% (PSL 10%:  $44,88 \pm 4,67$  vs PSL 20%:  $90,17 \pm 13,59$ ) da PSL 20% em relação a PSL 10% e um aumento de 135% (PSL 15%:  $38,37 \pm 3,19$  vs PSL 20%:  $90,17 \pm 13,59$ ) da PSL 20% em relação à PSL 15% (Figura 3).

**Figura 3** - Atividade enzimática da ALT após ingestão da ração modificada acrescida da proteína do soro do leite (PSL) ou ração padrão, por 30 dias. CN: controle negativo, PSL 10%: proteína do soro do leite 10%, PSL 15%: proteína do soro do leite 15%, PSL 20%: proteína do soro do leite 20%, a:  $p < 0,05$  em relação ao grupo CN, b:  $p < 0,05$  em relação ao grupo PSL 10%, c:  $p < 0,05$  em relação ao grupo PSL 20%. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (ANOVA-Turkey).

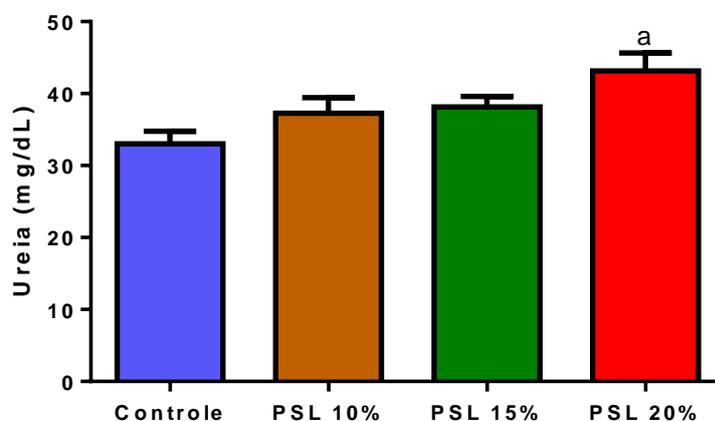


Fonte: Autoria própria.

A ALT é primariamente limitada ao citosol dos hepatócitos sendo, portanto, considerada um indicador altamente sensível de dano hepatocelular e, dentro de certos limites, pode fornecer uma taxa quantitativa do grau de danificação sofrido pelo fígado (AL-HABORI *et al.*, 2002). Dessa forma, o aumento apenas na atividade da enzima ALT, para os grupos de animais alimentados com PSL 20%, pode ser provavelmente devido à uma lesão dos hepatócitos dos animais, não sendo de extensão e gravidade o bastante para provocar o aumento, também, da enzima AST. Entretanto, é necessária a realização de uma análise histológica que comprove o fato descrito.

Os níveis plasmáticos de ureia tiveram um aumento de 30,69% (CN:  $33,00 \pm 1,79$  vs PSL 20%:  $43,13 \pm 2,51$ ) do PSL 20% ao CN (Figura 4).

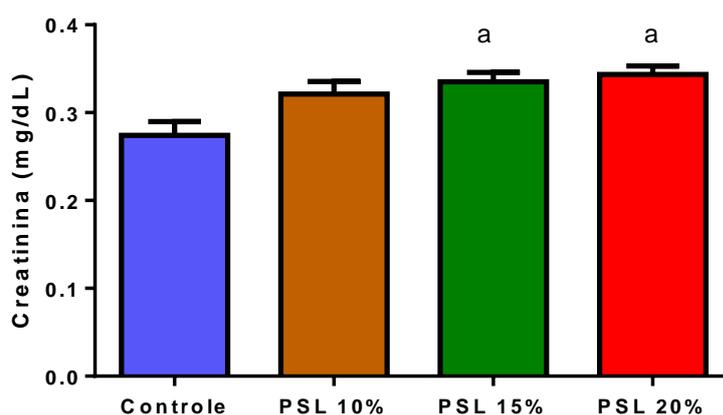
**Figura 4** - Níveis plasmáticos de ureia após ingestão da ração modificada acrescida da proteína do soro do leite (PSL) ou ração padrão, por 30 dias. CN: controle negativo, PSL 10%: proteína do soro do leite 10%, PSL 15%: proteína do soro do leite 15%, PSL 20%: proteína do soro do leite 20%, a:  $p < 0,05$  em relação ao grupo CN. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (ANOVA-Turkey).



Fonte: Autoria própria.

A creatinina apresentou aumento de 22,22% (CN:  $0,27 \pm 0,01$  vs PSL 15%:  $0,33 \pm 0,01$ ) do PSL 15% em relação ao CN. Ademais, também foi possível obter um aumento de 25,92% (CN:  $0,27 \pm 0,01$  vs PSL 20%:  $0,34 \pm 0,01$ ) da PSL 20% em relação ao CN (Figura 5).

**Figura 5** - Níveis plasmáticos de creatinina após ingestão da ração modificada acrescida da proteína do soro do leite (PSL) ou ração padrão, por 30 dias. CN: controle negativo, PSL 10%: proteína do soro do leite 10%, PSL 15%: proteína do soro do leite 15%, PSL 20%: proteína do soro do leite 20%, a:  $p < 0,05$  em relação ao grupo CN. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (ANOVA-Turkey).



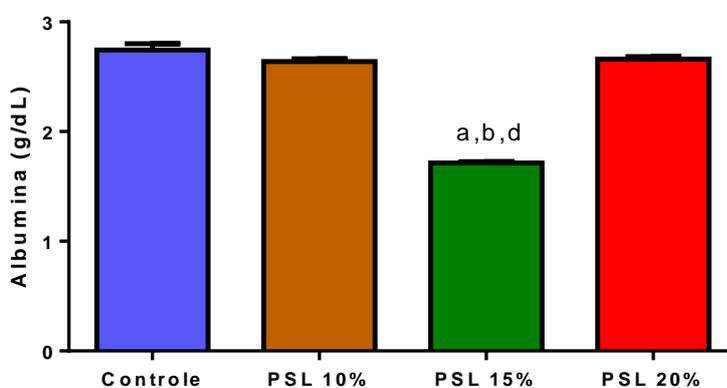
Fonte: Autoria própria.

A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia, que é produzida a partir do catabolismo das proteínas (HENRY, 2008). Assim, pode-se dizer que a ureia é oriunda do metabolismo das proteínas. Portanto, ao aumentar o aporte de proteínas para o animais em experimentação, espera-se que a síntese de ureia aumente sem, necessariamente, estar correlacionada com alteração da função renal.

Além disso, LACROIX *et al.* (2004), destacam que os roedores possuem uma elevada capacidade de concentrar ureia. Dessa forma, para fazer uma melhor avaliação da função renal seria necessária uma análise histológica do órgão, o que não foi possível ser realizada. A ingestão proteica, em contraste com a ingestão de gorduras ou de hidratos de carbono, influencia a hemodinâmica renal, estimando-se que o consumo excessivo de proteína resulte em sobrecarga renal, devido ao aumento da taxa de filtração glomerular (PAIVA; ALFENAS; BRESSAN, 2007). Portanto, os valores aumentados de creatinina tanto no grupo PSL 15% como PSL 20%, podem sugerir sobrecarga da função renal.

A albumina apresentou redução de 37,59% (CN:  $2,74 \pm 0,06$  vs PSL 15%:  $1,71 \pm 0,01$ ) do PSL 15% em relação ao CN. Também houve redução significativa de 35,23% (PSL 10%:  $2,64 \pm 0,02$  vs PSL 15%:  $1,71 \pm 0,01$ ) do PSL 15% em comparação ao PSL de 10%, assim como também aconteceu um aumento de 55,55% (PSL 15%:  $1,71 \pm 0,01$  vs PSL 20%:  $2,66 \pm 0,02$ ) do PSL 20% ao PSL 15% (Figura 6).

**Figura 6** - Níveis plasmáticos de albumina após ingestão da ração modificada acrescida da proteína do soro do leite (PSL) ou ação padrão, por 30 dias. CN: controle negativo, PSL 10%: proteína do soro do leite 10%, PSL 15%: proteína do soro do leite 15%, PSL 20%: proteína do soro do leite 20%, a:  $p < 0,05$  em relação ao grupo CN, b:  $p < 0,05$  em relação ao grupo PSL 10%, d:  $p < 0,05$  em relação ao grupo PSL 20%. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (ANOVA-Turkey).



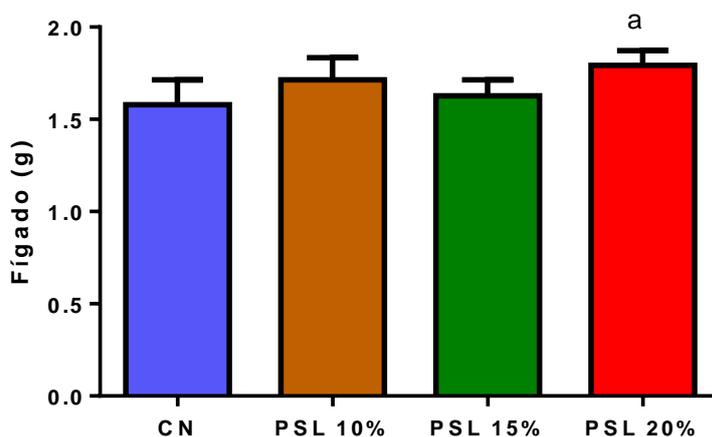
Fonte: Autoria própria.

Com relação a albumina, não foi possível observar na literatura informações suficientes e semelhantes as encontradas nesse estudo que justificassem a alteração desses parâmetros em comparação entre as demais concentrações, o que torna difícil especular quais os mecanismos envolvidos e as possíveis causas dessas alterações.

Em relação ao peso dos órgãos rins e fígado, retirados após 30 dias de tratamento com ração padrão ou ração modificada, observou-se que somente os animais que receberam

PSL 20% apresentaram aumento no peso do fígado de forma significativa. Nenhuma alteração foi visualizada com o peso dos rins (Figura 7).

**Figura 7** - Peso do fígado (g) após ingestão da ração modificada acrescida da proteína do soro do leite (PSL) ou ração padrão, por 30 dias. CN: controle negativo, PSL 10%: proteína do soro do leite 10%, PSL 15%: proteína do soro do leite 15%, PSL 20%: proteína do soro do leite 20%, c:  $p < 0,05$  em relação ao grupo CN. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (ANOVA-Turkey).



Fonte: Autoria própria.

Dessa forma, a ingestão de proteína do soro do leite pode ter promovido uma hipertrofia dos hepatócitos o que, conseqüentemente, acarretou no aumento do peso do órgão. Poucos trabalhos voltam-se a pesagem dos órgãos, porém alguns estudos obtiveram esse mesmo resultado, evidenciando que o peso do fígado de ratos sedentários era maior quando comparado ao dos ratos que passaram por um treinamento físico, no qual esse dano está intimamente ligado com o aumento da ALT, ao mesmo tempo que outros estudos relatam sobre o efeito hepatoprotetor que a PSL tem sobre o fígado, o que instiga a realização de uma análise histológica do tecido para a maior obtenção de informações (COSTA, 2010).

De acordo com os resultados demonstrados, verifica-se que a proteína do soro do leite em camundongos sedentários nas concentrações e período estudado, não alterou glicose, colesterol total, plaquetas, AST e proteínas totais. Entretanto, observou-se alterações significativas nos valores de ALT, albumina, ureia e creatinina, bem como do peso do fígado, indicando que mais estudos devem ser realizados com esse suplemento alimentar para avaliar os possíveis riscos associados ao seu uso.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante a realização desse estudo, é notório que a comunidade acadêmica ainda não obteve respostas claras em especificar como a PSL influencia diretamente no funcionamento do organismo. Muitos estudos não apresentam conclusões completas e há divergências sobre quais mecanismos estão efetivamente envolvidos na alteração ou na estabilização dos padrões hematológicos e bioquímicos.

Portanto, conclui-se que os parâmetros hematológicos não sofreram alteração, exceto os leucócitos, e os marcadores bioquímicos glicose, colesterol total, proteínas totais e AST também não sofreram alterações significativas, muito provavelmente pelo estímulo estressor (atividade física) não ter sido empregado, o que não alterou o funcionamento metabólico do organismo. Já os leucócitos, sofreram redução significativa, provavelmente por causa das PSL serem proteínas bem extensas e que acabem influenciando no estímulo imune para serem hidrolisadas. Dentre os parâmetros bioquímicos, a ALT sofreu alterações significativas, possivelmente associada a lesão hepática que, associada ao aumento do peso do fígado, fortalece a hipótese de dano hepática, mas sem confirmação histológica.

Ureia e creatinina também sofreram alterações significativas, mas isso possivelmente aconteceu pela maior ingestão de proteínas na alimentação, sem necessariamente está correlacionada com um dano renal. Albumina e triglicerídeos também sofreram alterações significativas, entretanto nem a literatura e nem o experimento conseguiram esclarecer os motivos de suas alterações. Em vista dessas questões levantadas, faz-se necessário que cada vez mais sejam desenvolvidas pesquisas em torno das consequências causadas pelo consumo excessivo da proteína do soro do leite e seu funcionamento em organismos sem a necessidade metabólica que esses suplementos oferecem, além de também buscarem conhecer quais são os mecanismos que influenciam nos valores de albumina e triglicerídeos em relação a PSL.

Esse estudo apresenta grande relevância para todos os profissionais da saúde, inclusive para os enfermeiros(as), pois esses são os trabalhadores que mais desenvolvem atividades de educação em saúde com a população, nos mais diferentes ambientes, como escolas, postos de saúde, hospitais, etc. As informações obtidas nesse estudo orientam com relação aos cuidados na ingestão de preparados proteicos, os riscos causados pelo consumo excessivo, as alterações causadas no organismo, a busca por um profissional qualificado, entre outros. Ademais, também é válido ressaltar que o conhecimento adquirido poderá ajudar em uma melhor interpretação de exames laboratoriais de usuários de suplementos alimentares, assim como ajudar no fechamento de diagnósticos juntamente com a equipe multiprofissional.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AL-HABORI, M. et al. Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long-term feeding experiment in animals. **Ethno-Pharmacology**. v. 83, p. 209-217. 2002.

ALVES, C.; LIMA, R. V. Uso de suplementos alimentares por adolescentes. **Jornal de Pediatria**. vol. 85, n. 4. 2009.

ARAÚJO, L. S. *et al.* Preconceito frente à obesidade: representações sociais veiculadas pela mídia impressa. **Arquivos Brasileiros de Psicologia**; Rio de Janeiro, vol. 70, n.1, p. 69-85. 2018.

BARBOSA, B. R. S. N.; SILVA, L. V. A mídia como instrumento modelador de corpos: um estudo sobre gênero, padrões de beleza e hábitos alimentares. **Razón y Palabra**, vol. 20, n. 94, p. 672-687. Dez. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC Nº 18, de 27 de Abril de 2010**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0018\\_27\\_04\\_2010.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0018_27_04_2010.html). Acesso em: 25 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 243, de 26 de Julho de 2018**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379969/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-243-de-26-de-julho-de-2018-34379917](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379969/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-243-de-26-de-julho-de-2018-34379917). Acesso em: 25 mar. 2021.

CALBET, J. A.; MACLEAN, D. A. Plasma glucagon and insulin responses depend on the rate of appearance of amino acids after ingestion of different protein solutions in humans. **The Journal of Nutrition**. vol. 132, p. 2174-82. 2002.

CARRILHO, L. H. Benefícios da utilização da proteína do soro do leite *whey protein*. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. São Paulo, vol. 7, n. 40. 2013.

COSTA, G. E. A. **Comparação dos efeitos nutricionais, bioquímicos e fisiológicos decorrentes do consumo de proteínas do leite por ratos sedentários e treinados**. 2010. Tese (Doutorado Acadêmico em Nutrição) – Departamento de Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2010.

DUTRA, J. R.; SOUZA, S. M. F.; PEIXOTO, M. C. A influência dos padrões de beleza veiculados pela mídia, como fator decisório na automedicação com moderadores de apetite por mulheres no município de Miracema-RJ. **Revista Transformar**, Iguaçú. 2015.

FERREIRA, A. B. *et al.* Quais os suplementos alimentares mais utilizados?. **Cinergis**, Santa Cruz do Sul, vol. 17, n. 1, p. 85-90, Jan/Mar. 2016.

FERREIRA, C. C.; SANTOS, D. M.; VIEBIG, R. F.; FRADE, R. E. T. Atualidades sobre a suplementação nutricional com beta-alanina no esporte. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. São Paulo. v. 9, n. 51, p.271-278. Maio/Jun. 2015.

FERREIRA, U. M. G.; FERREIRAS, A. C. D.; AZEVEDO, A. M. P.; MEDEIROS, R. L.; SILVA, C. A. B. Esteróides Anabólicos Androgênicos. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**. vol. 20, n. 4, p. 267-275. 2007.

FRANZEN, J. M. *et al.* Baixa dose de whey protein reduz glicose, triglicerídeos e controla o peso corporal em ratos wistar. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, São Paulo, vol. 10, n. 57, p. 133-144. Maio/Jun. 2016.

HARAGUSHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Rev Nutr**. vol. 19. p. 479-88. 2006.

HENRY, JOHN BERNARD. **Diagnósticos Clínicos e tratamentos por métodos laboratoriais**. 20<sup>a</sup> ed. São Paulo. Editora: Manole, 2008.

HIRSCHBRUCH, M. D.; FISBERG, M.; MOCHIZUKI, L. Consumo de Suplementos por Jovens Frequentadores de Academias de Ginástica em São Paulo. **Rev. Bras. Med. Esporte**. vol. 14, n. 6. Dez. 2008.

IRIART, J. A. B.; CHAVES, J. C.; ORLEANS, R. G. Culto ao corpo e uso de anabolizantes entre praticantes de musculação. **Caderno Saúde Pública**. Rio de Janeiro, vol. 25, n. 4, p. 773-782. 2009.

KANTIKAS, M.G.L. **Avaliação do Uso de Suplementos Nutricionais à base de Soro Bovino pelos Praticantes de Musculação em Academias da Cidade de Curitiba-PR**. Dissertação de Mestrado. Curitiba. Universidade Federal do Paraná. 2007.

LACROIX, M. *et al.* A long-term high-protein diet markedly reduces adipose tissue without major side effects in Wistar male rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. vol. 287, n. 4, p. 934-942. 2004.

MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. **Alternative Medicine Review**. vol. 9. n. 2. 2004.

MOLIN, T. R. D. *et al.* Marco regulatório dos suplementos alimentares e o desafio à saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, Santa Maria, vol. 53, n. 90. Abr. 2019.

PAIVA, A. C.; ALFENAS, R. C. G.; BRESSAN, J. Efeitos da alta ingestão diária de proteínas no metabolismo. **Rev. Bras. Nutr**. vol. 22, n. 1. 2007.

PEDROSA, R. G.; DONATO JUNIOR, J.; TIRAPGUI, J. Dieta rica em proteína na redução do peso corporal. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 22, n. 1, p.105-111, jan./fev. 2009.

PEREIRA, R. F.; LAJOLO, F.M.; HIRSCHBRUCH, M.D. Consumo de suplementos por alunos de academias de ginástica em São Paulo. **Rev. Nutr**. [online]. vol.16, n.3, pp.265-272, 2003.

PINTO, L. S. *et al.* Representações sociais de beleza e de saúde entre mulheres com obesidade. **PsicolArgum**, vol. 38, n. 100, p. 290-315, Abr/Jun. 2020.

POORTMANS, J.; DELLALIEUX, O. Do regular high protein diets have potential health risks on kidney function in athletes? **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 10, n. 1, p. 28-38, mar. 2000

SOUZA, A. C. R. *et al.* Análise centesimal e sensorial de diferentes marcas de *whey protein* comercializadas no brasil. **E-Scientia**, Belo Horizonte, vol. 7, n. 2, p. 01-09. 2014.

TERADA, L.C.; GODOI, M.R.; SILVA, T.C.V.; MONTEIRO, T.L. Efeitos metabólicos da suplementação do *whey protein* em praticantes de exercícios com pesos. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. São Paulo, volume 3, nº16, 2009.

TIRAPEGUI, J.; MENDES, R. R. Introdução à Nutrição e à atividade física. In: Tirapegui, J. **Nutrição, Metabolismo e Suplementação na Atividade Física**. São Paulo. Editora Atheneu, 2005.

TRANBERG, B. *et al.* Whey protein reduces early life weight gain in mice fed a high-fat diet. **PLoS One**. vol. 8. 2013.