

EFEITO DA PROTEÍNA DO SORO DO LEITE (*WHEY PROTEIN*) SOBRE OS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA HIPERCALÓRICA.

Barbara Rodrigues Teixeira¹

Jamile Magalhães Ferreira²

RESUMO

A obesidade vem tornando-se uma preocupação mundial devido ao aumento da sua prevalência. Maiores crescimentos foram observados, principalmente, entre jovens com alta escolaridade, seja para excesso de peso, seja para obesidade. Estudos mostram que pacientes com Índice de Massa Corporal (IMC) acima do ideal foram registrados com mais frequência em casos críticos como decorrência do COVID-19, do que os pacientes com IMC normal. Modelos experimentais de indução de obesidade em animais de laboratório tem sido realizado para melhor compreender a obesidade bem como avaliar as potenciais substâncias efetivas no seu tratamento, como é o caso da proteína do soro do leite (PSL). O objetivo foi avaliar o efeito da PSL sobre os parâmetros bioquímicos de camundongos submetidos à ração hipercalórica. Os animais foram divididos nos grupos (n=8): Grupo 1, receberam apenas ração padrão (RP); Grupo 2, receberam apenas ração hipercalórica (RH); Grupo 3, receberam ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite (RHPSL) e Grupo 4, receberam ração hipercalórica (RH) + ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite (RHPSL). A obesidade foi induzida mediante ingestão por 12 semanas de RH. O G3 recebeu a PSL concomitante à RH, enquanto que em G4 induziu-se primeiramente a obesidade e, nos 28 dias posteriores, realizou-se o acréscimo de PSL à RH. Por fim, os animais foram submetidos a jejum de sólidos de 6-8h para determinação dos parâmetros bioquímicos. Os resultados obtidos foram tabulados e plotados nos programas *Graphpad Prism 5.0* e *Microsoft Office Excel 2013*[®] para análise estatística e geração de gráficos. Observaram-se alterações nos parâmetros glicose, colesterol total, colesterol HDL, ureia, albumina e proteínas totais, bem como no peso da gordura abdominal e do fígado. Os níveis de glicose aumentaram no Grupo 3 em 155,81% e 103,27%, quando comparado ao G1 e G2, respectivamente, enquanto que o G4 apresentou uma redução de 57,00% ao comparar com G3. A gordura abdominal dos animais dos grupos 2, 3 e 4, elevou-se de forma significativa em 163,39%, 227,94% e 25,48%, respectivamente em relação ao G1. O G3 apresentou aumento do peso do fígado comparado com G1 e G2, bem como foi o grupo que teve maiores valores de gordura abdominal, peso corpóreo e glicose. Em relação à função renal, apenas os níveis de ureia foram alterados, de forma que os grupos 2, 3 e 4 apresentaram valores reduzidos em 27,25%, 33,23% e 25,86%, respectivamente, desse parâmetro em relação ao G1. De acordo com os resultados demonstrados, verifica-se que a ração hipercalórica adicionada ou não de proteína do soro do leite na concentração e período estudado, proporcionou alterações significativas na glicose, colesterol total, colesterol HDL, ureia, proteínas totais e albumina.

Palavras-chave: Camundongos. Proteína do soro do leite. Dieta hipercalórica. Obesidade.

¹ Graduanda em Enfermagem da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro Brasileira – UNILAB, Redenção, CE, Brasil. E-mail: barbarart98@hotmail.com

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

THE WHEY PROTEIN EFFECT ON THE BIOCHEMICAL PARAMETERS OF MICE SUBMITTED TO HYPERCALORIC DIET.

Bárbara Rodrigues Teixeira¹

Jamile Magalhães Ferreira²

ABSTRACT

Obesity has become a worldwide concern due to the increase in its prevalence. Greater increases were observed, mainly, among young people with high schooling, either overweight or obese. Studies show that patients with an above-optimal Body Mass Index (BMI) were more frequently enrolled in critical cases as a result of COVID-19 than patients with a normal BMI. Experimental models of obesity induction in laboratory animals have been carried out to better understand obesity as well as to evaluate potential effective substances in its treatment, such as whey protein (PSL). The objective was to evaluate the effect of PSL on the biochemical parameters of mice submitted to hypercaloric chow. The animals were divided into groups (n=8): Group 1, received only standard chow (RP); Group 2, received only hypercaloric chow (RH); Group 3 received hypercaloric chow plus whey protein (RHPSL) and Group 4 received hypercaloric chow (RH) + hypercaloric chow plus whey protein (RHPSL). Obesity was induced by ingestion for 12 weeks of RH. G3 received PSL concomitantly with RH, while in G4 obesity was induced first and, in the 28 days later, PSL was added to RH. Finally, the animals were fasted for solids for 6-8 hours to determine the biochemical parameters. The results obtained were tabulated and plotted in Graphpad Prism 5.0 and Microsoft Office Excel 2013® programs for statistical analysis and graphing. Changes were observed in the parameters glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, urea, albumin and total proteins, as well as in the weight of abdominal fat and liver. Glucose levels increased in Group 3 by 155.81% and 103.27% when compared to G1 and G2, respectively, while G4 showed a reduction of 57.00% when compared to G3. The abdominal fat of animals in groups 2, 3 and 4 increased significantly by 163.39%, 227.94% and 25.48%, respectively, in relation to G1. G3 showed increased liver weight compared to G1 and G2, and was the group that had higher values of abdominal fat, body weight and glucose. Regarding renal function, only urea levels were altered, so that groups 2, 3 and 4 showed reduced values of 27.25%, 33.23% and 25.86%, respectively, for this parameter in relation to the G1. According to the demonstrated results, it is verified that the hypercaloric ration with or without whey protein in the concentration and period studied, provided significant changes in glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, urea, total proteins and albumin.

Keywords: Mice. Whey protein. Hypercaloric diet. Obesity.

¹ Graduanda em Enfermagem da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro Brasileira – UNILAB, Redenção, CE, Brasil. E-mail: barbarart98@hotmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

1.1 OBESIDADE

A obesidade vem tornando-se uma preocupação mundial devido ao aumento da sua prevalência. No mundo, pelo menos 2,8 milhões de pessoas morrem a cada ano como resultado do excesso de peso ou obesidade (OMS, 2016). Em 2016, dados mostraram que 39% dos adultos estavam com sobrepeso e 13% com obesidade. As tendências do índice de massa corporal (IMC) em todo o mundo, no período entre 1975 e 2016, evidenciam o crescente aumento dessas condições nos adultos (SILVA *et al.*, 2021). Acredita-se que se esta incidência permanecer, quase metade da população adulta do mundo estará com sobrepeso ou obesidade até 2030. Assim, a obesidade configura-se não somente como um importante problema de saúde pública devido à sua prevalência e incidência, mas também devido ao seu custo econômico (TREMMELE *et al.*, 2017).

Observa-se aumento da proporção de adultos com excesso de peso e obesidade nos estudos do período de 2006 a 2019. Maiores crescimentos foram observados, principalmente, entre jovens com alta escolaridade, seja para excesso de peso, seja para obesidade. As características sócio-demográficas parecem ter influência no aumento do excesso de peso e obesidade, especialmente entre os mais jovens. Maiores variações no sexo feminino podem estar relacionadas a questões de gênero, com impacto expressivo sobre sua saúde (SILVA *et al.*, 2021). Fatores como o hábito de fumar ou os níveis séricos de colesterol- LDL elevados aumentam o risco para o desenvolvimento de obesidade em adultos jovens (CONDE E BORGES, 2011).

É uma doença crônica de causa multifatorial, resultado de um balanço energético positivo sendo desencadeada, na grande maioria dos casos, pela associação de fatores genéticos, ambientais e comportamentais. Dentre os fatores ambientais e comportamentais pode-se citar a inatividade física e o comportamento alimentar inadequado, como o alto consumo de produtos industrializados, associado ao reduzido consumo de frutas, hortaliças e leguminosas (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016).

Nesse contexto tem-se, ainda, a síndrome metabólica (SM) que representa um grupo de fatores de risco cardiometabólico que incluem a obesidade abdominal combinada com a elevação da pressão arterial, glicemia de jejum e triglicérides, e redução do nível de colesterol HDL. A presença de SM está associada a um risco aumentado de eventos cardiovasculares e mortalidade (CASTANHO *et al.*, 2013).

Estudos mostram que pacientes com Índice de Massa Corporal (IMC) acima do ideal foram registrados com mais frequência em casos críticos como decorrência do COVID-19, do que os pacientes com IMC normal. Isso se relaciona especialmente ao fato de que a obesidade é condição que traz consigo importantes alterações na função pulmonar, alterações anatômicas e aumenta a possibilidade de coexistência de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) (COSTA *et al.*, 2020). Existem alguns mecanismos potenciais que colocam a obesidade como fator de risco severo para infecção grave por SARS-CoV-2. Estudos sugerem que a deposição ectópica de gordura reduza a reserva cardiorrespiratória protetora, tendo efeitos prejudiciais sobre a função pulmonar, com diminuição do volume expiratório forçado e capacidade vital forçada. (MOREIRA, REIS E FREIRE, 2020).

Diante deste cenário, muitos trabalhos encontrados na literatura têm focado na indução da obesidade em animais de laboratório com o intuito de compreender melhor esse distúrbio metabólico bem como avaliar as potenciais substâncias efetivas no seu tratamento e das comorbidades associadas.

1.2 MODELOS DE OBESIDADE

A utilização de modelos experimentais com animais é de fundamental importância para o estudo dos mecanismos pelos quais a obesidade induz as disfunções fisiológicas, bem como para o estudo de novos fármacos ou substâncias que possam ser usados no seu tratamento. Existem diferentes modelos de animais, grande parte deles utilizam roedores, que desenvolvem a obesidade a partir de dietas modificadas ou de mutações genéticas (ROSINI, SILVA, MORAIS, 2012).

Considerando que o modelo deve ser o mais próximo possível do desenvolvimento da obesidade em humanos, seria mais indicada a indução da obesidade por meio do consumo de alimentos altamente palatáveis e com alto valor energético (ROSINI, SILVA E MORAIS, 2012). Existem vários tipos de dieta para induzir a obesidade experimentalmente em animais, como por exemplo: dieta hiperlipídica (WHITE *et al.*, 2013), dieta de cafeteria (ESTADELA *et al.*, 2004) e dieta hipercalórica (TORRES, 2018). Os modelos que usam dieta para induzir a obesidade variam na composição da dieta, no período de ingestão e nos parâmetros alterados a partir do seu consumo.

Na obesidade, observa-se aumento do tecido adiposo que é caracterizado por achados conhecidos como hiperplasia (aumento no número de células de gordura) e

hipertrofia (aumento do tamanho celular) para armazenar triglicerídeos de forma eficaz no tecido adiposo (SHIN *et al.*, 2014; SUGANAMI, TANAKA e OGAWA, 2012).

Dessa forma, a partir de modelos experimentais *in vivo* é possível verificar a atividade de substâncias com potencial para o tratamento e prevenção da obesidade e doenças correlacionadas como diabetes, dislipidemias, hipertensão, dentre outras. Dentre essas substâncias, destaca-se a proteína do soro do leite, também conhecida como *whey protein*.

1.3 WHEY PROTEIN OU PROTEÍNA DO SORO DO LEITE

O *whey protein* é a proteína do soro do leite extraída durante a fabricação de queijo. Atualmente é utilizada como matéria-prima em suplementos proteicos para atletas e na indústria alimentícia como aditivo na fabricação de uma série de produtos, como fórmulas infantis, alimentos fortificados e com teor lipídico reduzido, produtos cárneos, lácteos e de panificação (SCARLATO *et al.*, 2015). 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, podendo ser adicionado de vitaminas e minerais, sendo proibida a adição de fibras alimentares e de não nutrientes, segundo a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2010).

As principais características destas proteínas são possuir um alto teor de aminoácidos essenciais, os de cadeias ramificadas e apresentar sequências de peptídeos bioativos e também apresentam alto teor de cálcio (SOUZA *et al.*, 2015). Essas moléculas proteicas apresentam uma estrutura globular contendo algumas pontes de dissulfeto, que conferem um certo grau de estabilidade estrutural. As frações ou peptídeos do soro são constituídas de: beta-lactoglobulina (BLG), alfa-lactoalbumina (ALA), albumina do soro bovino (BSA), imunoglobulinas (Ig's) e glicomacropéptídeos (GMP). Essas frações podem variar em tamanho, peso molecular e função, fornecendo às proteínas do soro do leite características especiais (HARAGUCHI, DE ABREU, DE PAULA, 2006).

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 (*fast metabolizing proteins*), muito adequadas para situações de estresses metabólicos em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial (SOUZA *et al.*, 2014)

A *whey protein* apresenta-se geralmente sob três formas: concentrada (WPC), isolada (WPI) e hidrolisada (WPH). As WPC apresentam geralmente (mas nem sempre) níveis reduzidos de gordura e colesterol. No entanto, em comparação com as outras formas de proteína do soro do leite, têm maior número de compostos bioativos e hidratos de carbono na forma de lactose. As WPI são processadas de modo a remover a gordura ou a lactose. No entanto, apresentam níveis também reduzidos de compostos bioativos. As hidrolisadas (WPH) são proteínas do soro do leite pré-digeridas através de um processo químico, de modo a facilitar o metabolismo, embora o seu custo de mercado seja superior. A proteína do soro do leite hidrolisada pode ser menos alergênica em relação a outras formas da proteína (JIMENEZ *et al.*, 2012).

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 proteica e energética 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)

1.4 EFEITOS DA PROTEÍNA DO SORO DO LEITE

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, DE ABREU, DE PAULA; 2006; CALBET, MACLEAN, 2002).

Estudos tem apontado resultados promissores do uso do *whey protein* no tratamento do câncer, HIV, hepatite B, doenças cardiovasculares, osteoporose e como agente antimicrobiano (MARSHAL, 2004).

Experimentos realizados em modelos animais com obesidade induzida pelo aumento de gordura na dieta (ração rica em caseína), 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).

Existem evidências de que as dietas com maior proporção de proteína e menor de carboidrato promovem maior perda de peso, maior redução de gordura corporal e menor perda de massa magra, quando comparadas às dietas convencionais (PEDROSA; DONATO JUNIOR; TIRAPEGUI, 2009). Além disso, acredita-se que a ingestão diária de produtos lácteos e proteína do soro do leite podem promover a prevenção e/ou atenuação da crescente epidemia de obesidade. Entretanto, não há dados suficientes para suportar que a ingestão de cálcio e proteína do soro do leite diariamente pode ajudar indivíduos detentores da doença crônica (MARSHAL, 2004).

Ainda não está esclarecido o mecanismo pelo qual a dieta com maior proporção de proteína aumenta a redução de peso em relação à dieta convencional. Todavia, algumas hipóteses acreditam no maior efeito da proteína na saciedade, quando comparado ao do carboidrato. Outro mecanismo proposto para explicar o efeito da dieta rica em proteína na redução de peso está correlacionado ao maior efeito desta dieta na termogênese, mais especificamente no efeito térmico dos alimentos (ETA). O ETA refere-se ao aumento do gasto energético observado após a ingestão de uma refeição. Dessa forma, tem-se que o ETA produzido pela proteína pode ser de 20 a 35% do conteúdo energético ingerido, enquanto que o do carboidrato fica entre 5 e 15% e o da gordura fica entre 0 e 5% (PEDROSA; DONATO JUNIOR; TIRAPEGUI, 2009).

Apesar dos potenciais biológicos promissores da proteína do soro do leite, é importante destacar 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 ocasionar acúmulo de amônia, o que pode sobrecarregar a função renal (PEDROSA; DONATO JUNIOR; TIRAPEGUI, 2009).

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).

Diante do exposto, a realização do protocolo experimental descrito permitirá avaliar se a proteína do soro do leite possui propriedades de prevenir ou de tratar as alterações metabólicas promovidas pela obesidade, tais como hiperglicemia e hiperlipidemia, observando-se também as funções hepáticas e renais. Ademais, estudos

envolvendo animais de laboratórios são de grande relevância, pois fornecem informações acerca do que pode vir a ser visualizado em humanos.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Avaliar o efeito da proteína do soro do leite sobre os parâmetros bioquímicos dos camundongos submetidos à ração hipercalórica.

Objetivos Específicos

- Observar se a ração hipercalórica foi capaz de promover a obesidade bem como alterar os perfis glicêmico e lipídico dos animais.
- Avaliar os metabolismos glicêmico e lipídico, função renal e hepática, além das proteínas plasmáticas de camundongos submetidos à dieta hipercalórica e, posteriormente tratados com proteína do soro do leite.
- Avaliar os metabolismos glicêmico e lipídico, função renal e hepática além das proteínas plasmáticas de camundongos submetidos ao uso concomitante de proteína do soro do leite e dieta hipercalórica.
- Verificar o efeito da proteína do soro do leite sobre a massa corpórea, peso do fígado, bem como gordura abdominal de todos os grupos estudados.

2. METODOLOGIA

2.1 Animais de experimentação

Foram utilizados camundongos *swiss* (~30g) 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*.

2.2 Delineamento experimental

2.2.1 Grupos experimentais

Para avaliação do efeito da proteína do soro do leite sobre a alteração no metabolismo lipídico e glicêmico induzidos pela ingestão da ração hipercalórica (MELO, 2010) que promoverá a obesidade, os animais foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos (n=8):

- Grupo 1: os animais receberam apenas ração padrão por 16 semanas (RP);
- Grupo 2: os animais receberam apenas ração hipercalórica por 16 semanas (RH);
- Grupo 3: os animais receberam ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite por 16 semanas (RHPSL);
- Grupo 4: os animais receberam ração hipercalórica por 12 semanas (RH) + ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite por 4 semanas (RHPSL).

2.2.2 Rações

A ração padrão foi a comercial Nuvilab (Colombo, PR, Brasil), cuja composição é de 19% de proteína, 56% de carboidratos, 3,5% de lipídios, 4,5% de celulose, 5% de vitaminas e minerais e 12% de umidade com um valor energético de 17,03 kJ/g. Enquanto que, a ração hipercalórica foi confeccionada a partir da padronização proposta por Estadella *et al.*, 2004. A dieta foi formada pelos seguintes constituintes e quantidades: 15 g de ração padrão, 10 g de amendoim torrado, 10 g de chocolate ao leite e 5 g de biscoito de maizena. Para a confecção de *pellets*, os ingredientes foram triturados e misturados. Ao final, a ração foi constituída de 24,68% de proteína, 43,88% de carboidratos, 21,67% de lípidos, 3,81% de celulose, 1,6% de vitaminas e minerais e 3,83% de umidade.

A ração hipercalórica foi confeccionada no Laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Farmácia da UFC, sob orientação do Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca. Após a confecção, as rações foram armazenadas em depósitos sob refrigeração de 2-8°C.

A concentração de proteína do soro do leite utilizada no presente estudo foi calculada baseada 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, o percentual de proteínas do soro do leite incorporado na ração a ser utilizada no presente estudo foi de 15%, concentração essa escolhida baseada em estudos preliminares realizados pelo grupo.

2.2.3 Indução da obesidade por consumo de ração hipercalórica durante 12 semanas com pós tratamento de 28 dias.

Após o período de aclimatização, os animais receberam ração padrão, ração hipercalórica ou ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite por 12 semanas. Os animais submetidos à ingestão de ração hipercalórica, após o período de indução de obesidade (12 semanas), foram divididos em 2 grupos compostos por 08 camundongos cada (conforme a média de peso). No grupo G2 a RH foi mantida por mais 4 semanas, enquanto que o grupo G4 recebeu após as 12 semanas de indução da obesidade, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite por 4 semanas.

Detalhando a divisão dos grupos acima descritos, tem-se que os resultados do G2 serão comparados com os do G1 com a finalidade de observar se ocorreu a indução da obesidade bem como a modificação nos perfis lipídico e glicêmico; os resultados obtidos com o G3 foram utilizados para avaliar se a proteína do soro do leite acrescida na ração hipercalórica impedirá a indução da obesidade bem como hiperlipidemia e hiperglicemia e os resultados do G4 foram utilizados para avaliar se após a indução da obesidade, a incorporação da proteína do soro do leite na ração hipercalórica reduzirá a hiperlipidemia e hiperglicemia.

2.3 Análises laboratoriais

Ao final do período, foi realizada coleta sanguínea através do plexo retro orbital, mediante realização de jejum de sólidos de 6-8h. Posteriormente, foram analisados os seguintes parâmetros bioquímicos: glicose (metabolismo glicêmico); colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos (metabolismo lipídico); AST, ALT (função hepática); ureia, creatinina, ácido úrico (função renal), proteínas totais e albumina (metabolismo proteico). A gordura abdominal e o fígado foram retirados e pesados ao final do experimento.

Destaca-se, ainda, que durante todo o período de experimentação, os animais foram acompanhados semanalmente quanto ao ganho de massa corpórea, utilizando-se balança apropriada.

Todas as análises descritas acima foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

2.4 Análises estatísticas

Os resultados das determinações bioquímicas glicose, colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos, AST, ALT, ureia, creatinina, ácido úrico, proteínas totais e albumina,

além dos dados relacionados ao ganho de massa corpórea, peso da gordura abdominal e fígado foram tabulados e plotados nos programas *Graphpad Prism 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 $p < 0,05$.

2.5 Aspectos éticos

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, sendo aprovado com o número com o número 6769301118.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atualmente, existem inúmeros suplementos alimentares disponíveis no mercado. Seu uso, na maioria das vezes, é voltado apenas para a prática de exercícios físicos. Entretanto, tem sido descrito na literatura a utilização de alguns deles, tais como creatina e proteína do soro do leite (PSL) para outras finalidades. No caso específico da proteína do soro do leite, estudos tem apontado resultados promissores do seu uso no tratamento do câncer, HIV, hepatite B, doenças cardiovasculares, osteoporose e agente antimicrobiano (MARSHAL, 2004). Tal fato motivou o estudo da proteína do soro de leite em camundongos submetidos à ração hipercalórica para indução de obesidade, em dois aspectos específicos que são: avaliar se a PSL será capaz de melhorar as modificações promovidas pela indução da obesidade no que diz respeito aos perfis glicêmico e lipídico bem como o peso dos animais; e verificar se o uso concomitante de PSL e dieta hipercalórica será capaz de impedir a indução da obesidade e alterações metabólicas baseado nos parâmetros bioquímicos para análise dos perfis glicêmico e lipídico bem como o peso dos animais. O presente trabalho é relevante visto que os suplementos proteicos são substâncias bastantes empregadas por quem realiza atividade física, mas que também podem apresentar resultados promissores quando utilizados para outras finalidades.

Após a trituração da ração padrão e mistura com chocolate ao leite, biscoito maisena e amendoim, com adição ou não de proteína do soro do leite 15% obtiveram-se rações semelhantes 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.

Em protocolos experimentais com animais, uma das formas de administração de substâncias a serem testadas é a oral. A administração oral, pode ser por gavagem, na qual garante-se a dose e a quantidade administrada, ou por livre acesso do animal à substância teste que pode ser realizada oferecendo-se nos bebedouros ou incorporadas à ração. Optou-se em acrescentar a proteína do soro do leite na ração hipercalórica, uma vez que se utilizou camundongos e os mesmos são roedores, o que facilita a ingestão da substância em estudo (FIOCRUZ, 2005).

Já nos resultados da ingestão da ração hipercalórica adicionada ou não de proteína do soro do leite e ração padrão, por 16 semanas, a ração hipercalórica foi efetiva em promover o aumento do peso dos animais visto que, ao final de 16 semanas, o G1 (ração padrão) apresentou a média de peso de 43,81g enquanto que em G2 (ração hipercalórica) foi de 51,66g, demonstrando uma elevação de 17,91%. G3, por sua vez, foi o grupo que apresentou o maior ganho de peso 56,71g, demonstrando que a ingestão de PSL 15% concomitante à indução da obesidade não foi capaz de impedir o ganho de peso. O peso médio de G4, ao final do experimento, foi de 50,17g, podendo-se sugerir que a ingestão de PSL 15% após a indução da obesidade não evitou o ganho de peso (Figura 1). Tendo em vista, o resultado observado no G3, pode ser inferir que a ingestão de PSL acompanhada de uma dieta desbalanceada parece favorecer à um ganho de peso (Figura 1).

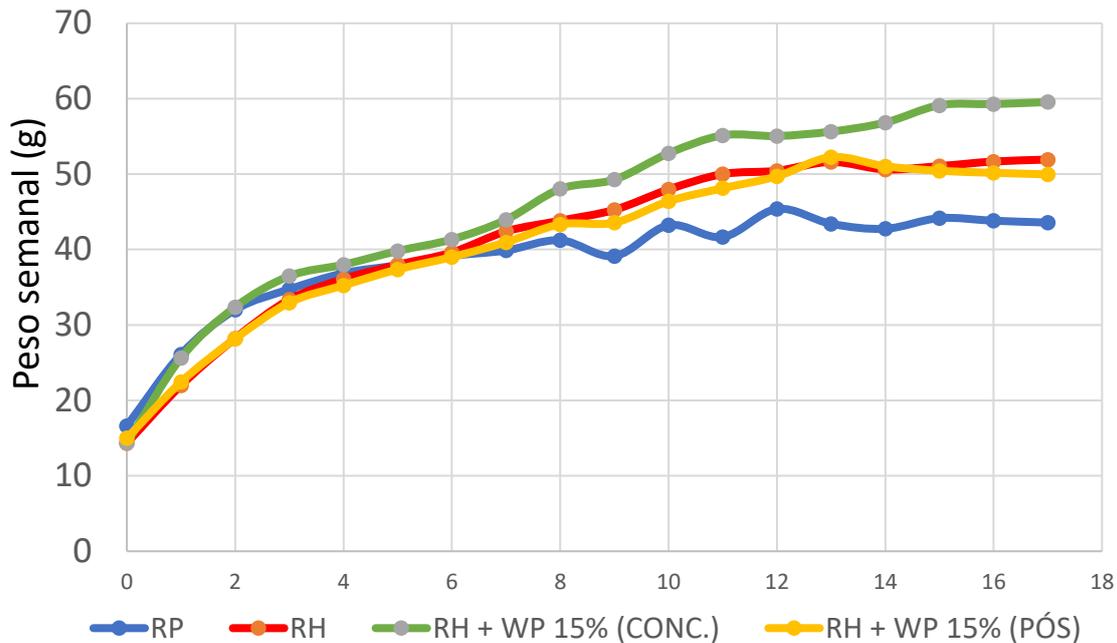


Figura 1. Ganho de peso semanal (g) durante a ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão por 16 semanas. RP: ração padrão, RH: ração hipercalórica, RH+WP15% (CONC.): ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, RH+WP15% (PÓS): ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%.

A ração hipercalórica adicionada ou não de proteína do soro do leite, não promoveu alterações significantes nos níveis de triglicerídeos, AST, ALT, creatinina e ácido úrico plasmáticos. Entretanto, os valores de glicose (figura 2), colesterol total (figura 3), colesterol HDL (figura 4), proteínas totais (figura 5) e albumina foram alterados (figura 6).

Os níveis de glicose aumentaram no Grupo 3 em 155,81% e 103,27%, quando comparado ao Grupo 1 e Grupo 2, respectivamente, enquanto que o G4 apresentou uma redução de 57,00% ao comparar com G3. No que diz respeito aos valores de colesterol total, verificou-se elevação nos grupos 2, 3 e 4 de 58,50%, 43,59%, 19,70%, respectivamente, em relação ao G1. No colesterol HDL, visualizou-se aumento nos Grupos 2 e 3, quando comparado ao G1, enquanto que o G4 apresentou níveis inferiores quando comparado ao Grupo 2.

O efeito da ingestão de proteínas e lipídeos sobre a glicose depende das quantidades consumidas e do equilíbrio entre os nutrientes ingeridos. Os macronutrientes supracitados podem ser convertidos em glicose, gerando efeitos negativos sobre o índice glicêmico. A proteína pode estimular a secreção de glucagon, promovendo a liberação hepática de glicose, elevando os níveis glicêmicos (SBD, 2018). Acredita-se que esse

mecanismo tenha ocorrido no presente estudo, visto que a glicose se elevou apenas no grupo que recebeu ração hipercalórica concomitante à proteína do soro do leite, por 16 semanas. A presença do amendoim na constituição da ração hipercalórica, que possui fitoesteróis bem como elevada concentração de ácidos graxos monoinsaturados (SEBEI *et.al.*, 2013), pode justificar o aumento do colesterol HDL observado nos demais grupos, exceto no que recebeu ração padrão.

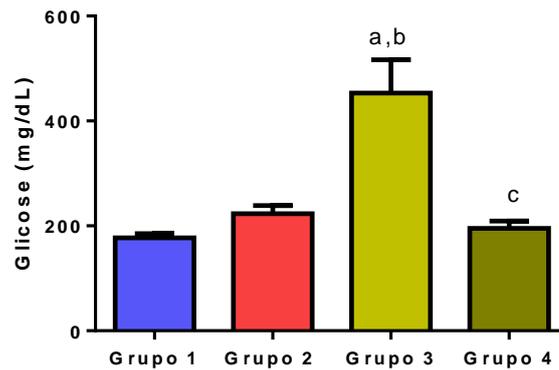


Figura 2. Níveis plasmáticos de glicose após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%, a: $p < 0,05$ em relação ao G1, b: $p < 0,05$ em relação ao G2, c: $p < 0,05$ em relação ao G3. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

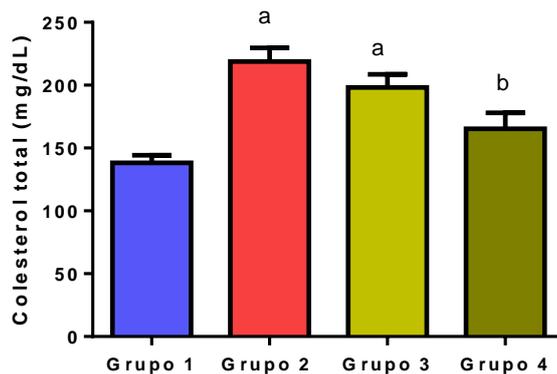


Figura 3. Níveis plasmáticos de colesterol total após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%, a: $p < 0,05$ em relação ao G1, b: $p < 0,05$ em relação ao G2. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

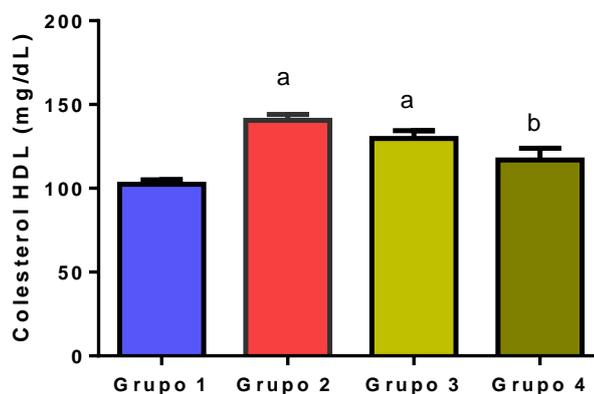


Figura 4. Níveis plasmáticos de colesterol HDL após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%, a: $p < 0,05$ em relação ao G1, b: $p < 0,05$ em relação ao G2. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

Em relação a função hepática, não foram observadas diferenças significativas nas atividades enzimáticas da AST e ALT que foram utilizadas na investigação da função hepática, demonstrando que a ingestão da ração hipercalórica associada ou não à PSL 15% não promoveu alteração hepatocelular nas concentrações e períodos estudados.

Verificou-se um aumento nos valores de proteínas totais (figura 5) e albumina (figura 6) nos grupos G2 e G3 quando comparados ao G1. Estudos afirmam que o *whey protein* têm rápida digestão e absorção intestinal, o que proporciona elevação da concentração de aminoácidos no plasma, que, por sua vez, estimula a síntese proteica (CARRILHO, 2013). Portanto, os dados da literatura corroboram com os achados do presente trabalho.

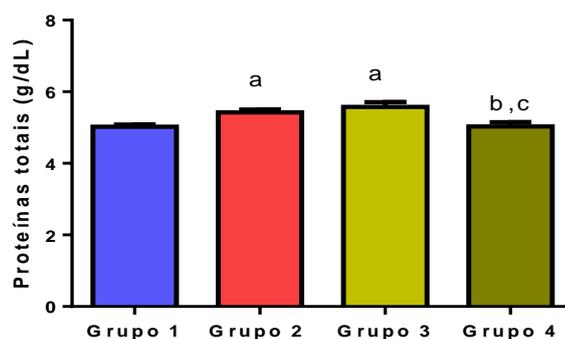


Figura 5. Níveis plasmáticos proteínas totais após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%, a: $p < 0,05$ em relação ao G1, b: $p < 0,05$ em relação ao G2, c: $p < 0,05$ em relação ao G3. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

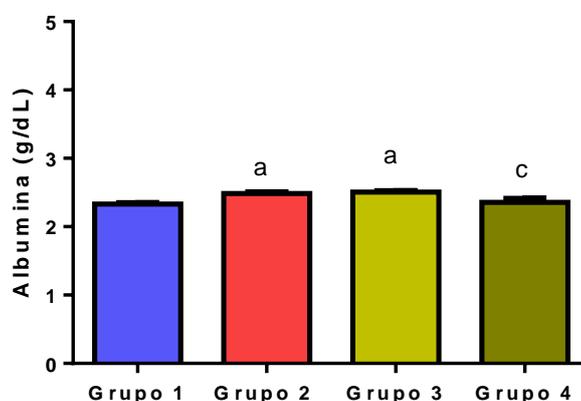


Figura 6. Níveis plasmáticos de albumina após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%, a: $p < 0,05$ em relação ao G1, b: $p < 0,05$ em relação ao G2, c: $p < 0,05$ em relação ao G3. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

No que diz respeito à função renal, avaliaram-se os níveis de ureia e creatinina. Apenas os níveis de ureia foram alterados (figura 7), de forma que os grupos 2, 3 e 4 apresentaram valores reduzidos em 27,25%, 33,23% e 25,86%, respectivamente, desse

parâmetro em relação ao G1. A ureia é produzida no fígado, sendo oriunda do catabolismo das proteínas (BURTIS, 2016). Mesmo com o aumento do aporte proteico, os níveis de ureia mostraram-se reduzidos, podendo sugerir que tenha ocorrido alguma alteração no mecanismo hepático de síntese da ureia.

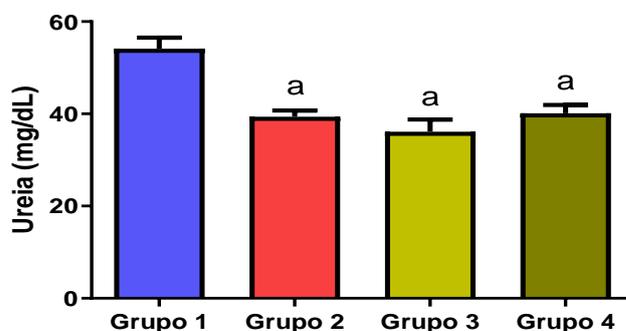


Figura 7. Níveis plasmáticos ureia após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%, a: $p < 0,05$ em relação ao G1. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

Observaram-se alterações de peso no fígado (figura 9) e na gordura abdominal (figura 8). A gordura abdominal dos animais dos grupos 2, 3 e 4, elevou de forma significativa em 163,39%, 227,94% e 125,48%, respectivamente, ao comparar com G1. Dessa forma, pode-se inferir que a ingestão da ração hipercalórica aumenta a gordura abdominal dos animais em 16 semanas, demonstrando o sucesso da realização do protocolo. Além disso, a ingestão de PSL 15% seja de forma concomitante à indução da obesidade (G3), ou ingerida após a indução da obesidade (G4), não foi capaz de impedir o acúmulo de gordura, no período avaliado.

O G3 apresentou aumento do peso do fígado comparado com G1 e G2, bem como foi o grupo que teve maiores valores de gordura abdominal, peso corpóreo e glicose. Pode-se sugerir que o aumento de glicose plasmática tenha promovido a ativação da glicogênese (acúmulo de glicogênio no fígado) bem como a conversão de glicose em gordura para posterior armazenamento tanto no tecido adiposo como no fígado. Os mecanismos descritos podem estar correlacionados com o aumento de peso observado no fígado do G3.

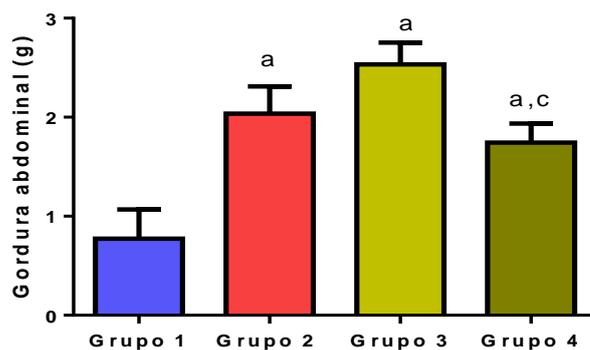


Figura 8. Peso da gordura abdominal (g) após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%, a: $p < 0,05$ em relação ao G1, b: $p < 0,05$ em relação ao G2, c: $p < 0,05$ em relação ao G3. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

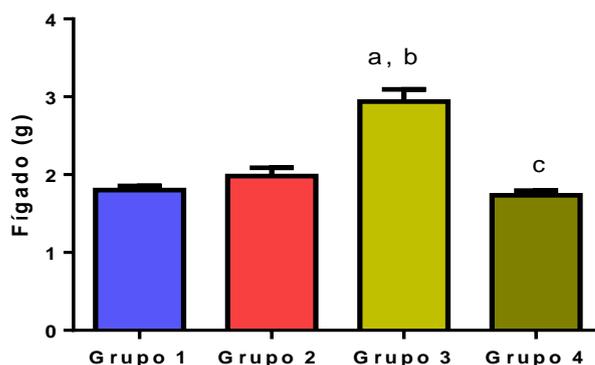


Figura 9. Peso do fígado (g) após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%, a: $p < 0,05$ em relação ao G1, b: $p < 0,05$ em relação ao G2, c: $p < 0,05$ em relação ao G3. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

Na literatura tem descrito que o *whey protein*, também conhecida como proteína do soro do leite, apresenta vantagem sobre a redução de gordura corporal, pelo fato de ser rico em cálcio. Quando aumentado na dieta, o cálcio reduz as concentrações de hormônios calcitrópicos, que, em altas concentrações, estimula a transferência de cálcio para os adipócitos, o que proporciona lipogênese e redução da lipólise. Portanto, a supressão dos hormônios calcitrópicos, mediada pelo cálcio dietético, pode ajudar a reduzir a deposição de gorduras nos tecidos adiposos (TERADA *et al.*, 2009). Esses achados não corroboram com os do presente estudo, possivelmente devido aos animais estarem fazendo o uso de

ração hipercalórica. Assim, destaca-se que a ingestão da PSL associada à uma dieta hipercalórica pode vir a promover efeitos diferentes dos encontrados na literatura no que diz respeito à gordura abdominal e ganho de peso corpóreo.

4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados demonstrados, verifica-se que a proteína do soro do leite adicionada à ração hipercalórica na concentração e período estudado, proporcionou alterações significativas na glicose, colesterol total, colesterol HDL, ureia, proteínas totais e albumina. Além disso, visualizou-se alterações no peso do fígado e gordura abdominal. Os resultados sugerem que mais estudos devem ser realizados com esse suplemento alimentar para avaliar os possíveis riscos associados ao seu uso em indivíduos obesos e sedentários.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, L.P.; CAVALCANTE, A.C.M.; ALMEIDA, P.C.; CARRAPEIRO, M.M. Relação da obesidade com o comportamento alimentar e o estilo de vida de escolares brasileiros. **Nutr. clín. diet. hosp.** 36(1):17-23, 2016.

ALVES, C. & LIMA, R.V. Uso de suplementos alimentares por adolescentes. **Jornal de Pediatria** - Vol. 85, Nº 4, 2009.

BRASIL, 2010. **Regulamento técnico sobre alimentos para atletas**, RDC Nº. 18, de 27 de abril de 2010.

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.**132:2174-82, 2002.

CAPITANI, C. D.; PACHECO, M. T. B.; GUMERATO, H. F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F. L. Recuperação das proteínas do soro do leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Revista Agropecuária Brasileira**, Brasília. Vol. 40, Núm. 11. p. 1123-1128, 2005.

CASTANHO, G.K.F.; MARSOLA, F.C. MCLELLAN, K.C.C.P.; NICOLA, M.; MORETO, F.; BURINI, R.C. Consumo de frutas, verduras e legumes associado à Síndrome Metabólica e seus componentes em amostra populacional adulta. **Ciência & Saúde Coletiva**, 18(2):385-392, 2013.

CONDE, W.L.; BORGES, C. The risk of incidence and persistence of obesity among Brazilian adults according to their nutritional status at the end of adolescence. **Rev Bras Epidemiol**, 2011.

COSTA, T.; CORREIA, R.; SILVA, P.; et al. A obesidade como coeficiente no agravamento de pacientes acometidos por COVID-19. **Research, Society and Development**. 2020

DIRETRIZ DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para saúde. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. Vol. 9. Num. 2, p. 43-56, 2003.

ESTADELLA D, OYAMA LM, DÂMASO AR, RIBEIRO EB, OLLER DO NASCIMENTO CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 20, n. 2, p. 218–24, fev. 2004.

HARAGUCHI FK, DE ABREU WC, DE PAULA H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Rev Nutr**.19:479-88, 2006.

JIMÉNEZ, X.T., CUENCA, A.A., JURADO, A.T. CORONA, A.A., URISTA, C.R.M. Traditional Methods for Whey Protein Isolation and Concentration: Effects on Nutritional Properties and Biological Activity. **J. Mex. Chem. Soc.** 56(4), 369-377, 2012.

MARSHALL, K. Therapeutics applications of whey protein. **Alternative Medicine Review**. Volume 9, Number 2, 2004

MELO, C.; QUEIROZ, M. G. R.; FONSECA, S .G .C.; BIZERRA, A .M .C.; LEMOS, T. L .G.; MELO, T .S.; SANTOS, F .A.; RAO, V .S. Oleanolic acid, a natural triterpenoid improves blood glucose tolerance in normal mice and ameliorates visceral obesity in mice fed a high-fat diet. **Chemico-Biological Interactions**, v. 185, 2010.

MOREIRA, G.; REIS, L.; FREIRE, P. Obesidade e agravamento da COVID 19- Artigo de revisão. **Health Residencies Journal**. 2020.

NADERALI EK, WILLIAMS G. Prolonged endothelial-dependent and -independent arterial dysfunction induced in the rat by short-term feeding with a high-fat, high-sucrose diet. **Atherosclerosis**.166(2):253-9, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Global Health Observatory (GHO)**. 2016.

PEDROSA, R.G.; JUNIOR, J.D.; TIRAPEGUI, J. Dieta rica em proteína na redução do peso corporal. **Rev. Nutr.**, Campinas, 22(1):105-111, jan./fev., 2009

ROSINI, T.C.; SILVA, A.S.R.; MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Rev Assoc Med Bras**, 2012.

SCARLATO, R.; MIRANDA, N.; *et al.* Determinação do teor de proteínas e carboidratos totais em suplementos tipo Whey Protein. **Rev Inst Adolfo Lutz**. 2015.

SHIN, S.H.; SEO, S.G.; MIN, S.; YANG, H.; LEE, E.; SON, J.E.; KWON, J.Y.; YUE, S.; CHUNG, M.Y.; KIM, K.H.; CHENG, J.X.; LEE, H.J. Caffeic acid phenethyl ester, a major component of propolis, suppresses high fat diet-induced obesity through inhibiting adipogenesis at the mitotic clonal expansion stage. **J. Agric. Food Chem.** 2014, 62, 4306–4312.

SILVA, L.; OLIVEIRA, M.; STOPA, S.; *et al.* Tendência temporal da prevalência do excesso de peso e obesidade na população adulta brasileira, segundo características sociodemográficas. **Epidemiol. Serv. Saúde.**, 30. 2021.

SOUZA, A.C.R.; SABINO, D.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, G.D.; SANTOS, J.L.P.; PARREIRAS, L.C.S.; COSCARELLI, M.V.; BICALHO, P.M.L. Análise centesimal e sensorial de diferentes marcas de *whey protein* comercializadas no Brasil. **E-Scientia**, Belo Horizonte, Vol. 7, N.º 2, p. 01-09, 2014.

SOUZA, L.; PALMEIRA, M.; PALMEIRA, E.; Eficácia do uso de whey protein associado ao exercício, comparada a outras fontes proteicas sobre a massa muscular de indivíduos jovens e saudáveis. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. 2015.

SUGANAMI, T.; TANAKA.; OGAWA, Y. Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation. **Endocrine Journal**. 59 (10), 849-857, 2012.

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. v. 3. n. 16. p. 295-304. Julho/Agosto. 2009.

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

TRANBERG, B.; HELLGREN, L.I.; LYKKESFELDT, J.; *et al.* Whey protein reduces early life weight gain in mice fed a high-fat diet. **PLoS One.**, 8: e71439, 2013.

TREMMEL, M.; GERDTHAM, U.; NILSSON, P.M.; SAHA, S. Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, 2017.

TORRES, L.; A obesidade induzida por dieta prejudica a indução de tolerância oral em camundongos. **Universidade Federal de Minas Gerais**. 2018.

WHITE, P.; BRITO, L.; Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, 5. 2013.

APÊNDICE

Tabela dos parâmetros bioquímicos analisados após ingestão da ração hipercalórica, ração hipercalórica acrescida de proteína do soro do leite ou ração padrão, após 16 semanas. Grupo 1: ração padrão, Grupo 2: ração hipercalórica, Grupo 3: ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15% concomitante, Grupo 4: ração hipercalórica e, após 12 semanas, ração hipercalórica + proteína do soro do leite 15%. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. (ANOVA-Turkey).

Parâmetros bioquímicos	Grupos experimentais			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
	Média \pm E.P.M.	Média \pm E.P.M.	Média \pm E.P.M.	Média \pm E.P.M.
Glicose (mg/dL)	177,2 \pm 7,92	223,0 \pm 15,91	453,3 \pm 63,40	195,0 \pm 14,17
Colesterol Total (mg/dL)	138,1 \pm 6,22	218,9 \pm 10,84	198,3 \pm 10,33	165,3 \pm 12,74
Colesterol HDL (mg/dL)	102,4 \pm 2,65	140,5 \pm 3,57	129,8 \pm 4,52	116,9 \pm 7,01
Triglicerídeos (mg/dL)	136,3 \pm 15,25	116,2 \pm 25,43	125,2 \pm 13,45	118,3 \pm 16,18
Ureia (mg/dL)	54,1 \pm 2,39	39,38 \pm 1,35	36,14 \pm 2,65	40,13 \pm 1,81
Creatinina (mg/dL)	0,28 \pm 0,010	0,30 \pm 0,008	0,32 \pm 0,016	0,31 \pm 0,008
Ácido úrico (mg/dL)	0,72 \pm 0,06	0,76 \pm 0,24	0,73 \pm 0,04	0,74 \pm 0,14
AST (U/L)	92,2 \pm 6,80	88,3 \pm 5,68	97,8 \pm 8,23	94,6 \pm 7,05
ALT (U/L)	43,8 \pm 4,69	34,38 \pm 4,20	51,33 \pm 7,59	42,57 \pm 7,03
Proteínas Totais (g/dL)	5,03 \pm 0,05	5,42 \pm 0,08	5,57 \pm 0,13	5,03 \pm 0,11
Albumina (g/dL)	2,33 \pm 0,02	2,49 \pm 0,02	2,50 \pm 0,02	2,35 \pm 0,06