



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

Efeitos da suplementação com *Whey Protein* no anabolismo proteico e na hipertrofia muscular em praticantes de atividade física: uma revisão sistemática

Rebeca Meirelles de Araújo Assis

Salvador (Bahia)
Maio, 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

A848 Assis, Rebeca Meirelles de Araújo
Efeitos da suplementação com *Whey Protein* no anabolismo proteico e na hipertrofia muscular em praticantes de atividade física: uma revisão sistemática /Rebeca Meirelles de Araújo Assis.- Salvador, 2016.
VIII, 29f.
Orientador: : Paulo Novis Rocha

Monografia - Conclusão do curso de Medicina. Faculdade de Medicina da Bahia – Universidade Federal da Bahia.

1. Proteína do soro. 2. Hipertrofia muscular. 3. Exercício. I. Rocha, Paulo Novis II. Faculdade de Medicina da Bahia. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDU:576.385.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

Efeitos da suplementação com *Whey Protein* no anabolismo proteico e na hipertrofia muscular em praticantes de atividade física: uma revisão sistemática

Rebeca Meirelles de Araújo Assis

Professor orientador: Paulo Novis Rocha

Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-B60/2015.2, como pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina.

Salvador (Bahia)
Maio, 2016

Monografia: *Efeitos da suplementação com Whey Protein no anabolismo proteico e na hipertrofi muscular em praticantes de atividade física: uma revisão sistemática*, de **Rebeca Meirelles de Araújo Assis**.

Professor orientador: Paulo Novis Rocha

COMISSÃO REVISORA:

- **Paulo Novis Rocha** (Presidente, Professor orientador), Professor do Departamento de Medicina e Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **André Gusmão Cunha**, Professor do Departamento de Anestesiologia e Cirurgia da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Ana Thereza Cavalcanti Rocha**, Professora do Departamento de Saúde Da Família da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Carolina Lara Neves**, Professora do Departamento de Medicina e Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO: Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no X Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV). Salvador (Bahia), em ___ de _____ de 2016.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*
(Madre Teresa de Calcuta)

Aos meus pais, **Rosana Meirelles e José Carlos Assis**

EQUIPE

- Rebeca Meirelles de Araújo Assis, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA. Correio-e: bekameirelles@hotmail.com;
- Professor orientador: Paulo Novis Rocha. Correio-e: paulonrocha@ufba.br

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

➤ Faculdade de Medicina da Bahia (FMB)

AGRADECIMENTOS

- ◆ Ao meu Professor orientador, Doutor **Paulo Novis Rocha**, pela dedicação, apoio constante e substantivas orientações e ensinamentos, que levarei para a vida.
- ◆ Aos Doutores **Ana Thereza Cavalcanti Rocha** e **André Gusmão Cunha** , membros da Comissão Revisora desta Monografia, pela disponibilidade e auxílio na correção do trabalho.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURA E TABELAS	2
I. RESUMO	3
II. OBJETIVO	4
III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
IV. REVISÃO DE LITERATURA	6
<i>IV.1 Whey Protein e sua ação no anabolismo proteico</i>	6
<i>IV.2 Whey Protein e a promoção de hipertrofia muscular no exercício</i>	7
V. METODOLOGIA	8
<i>V.1 Tipo de Estudo</i>	8
<i>V.2 Estratégia de Pesquisa</i>	8
<i>V.3 Critérios de Inclusão</i>	8
VI. RESULTADOS	10
<i>VI.1 Seleção dos Estudos</i>	10
<i>VI. 2 Características dos estudos</i>	11
<i>VI.3 Qualidade ds ensaios clínicos</i>	13
VII. DISCUSSÃO	19
VIII. CONCLUSÕES	23
IX. SUMMARY	24
X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

ÍNDICE DE FIGURA E TABELAS

FIGURA

FIGURA I. Fluxograma ilustrativo da busca realizada	11
-----------------------------------------------------	----

TABELAS

TABELA 1. Características gerais dos artigos que avaliaram a hipertrofia muscular como resultado	14
TABELA 2. Características gerais dos artigos que avaliaram o anabolismo proteico como resultado	15
TABELA 3. Características basais das amostras dos artigos revisados	16
TABELA 4. Resultados principais dos artigos que avaliaram a hipertrofia muscular	17
TABELA 5. Resultados principais dos artigos eu avaliaram o Anabolismo proteico	18

I. RESUMO

Efeitos da suplementação com *Whey Protein* no anabolismo proteico e na hipertrofia muscular em praticantes de atividade física: uma revisão sistemática. As proteínas do soro do leite, ou *Whey Protein*, possuem alto valor nutricional, contendo importante teor de aminoácidos essenciais, especialmente os de cadeia ramificada. Pesquisas vêm procurando demonstrar sua aplicabilidade no exercício, com possíveis efeitos benéficos sobre a síntese proteica e hipertrofia muscular. **Objetivo:** Revisar sistematicamente evidências na literatura científica sobre a influência do *Whey Protein* no anabolismo proteico e na hipertrofia muscular, quando em combinação com o exercício físico, em adultos saudáveis. **Método:** Realizou-se busca de artigos científicos nas bases de dados do PubMed, Lilacs e Scielo. Fez-se uma seleção inicial por título e, posteriormente, pela leitura dos resumos. Critérios de inclusão: estudos concluídos, participantes adultos saudáveis, desfecho medido de forma clara e objetiva. **Resultados:** Onze ensaios clínicos foram incluídos. Oito artigos avaliaram os resultados do uso de *Whey Protein* na hipertrofia muscular e seis no anabolismo proteico. A hipertrofia muscular foi medida através de: DEXA, biópsia muscular, USG, TC, RM, dobras cutâneas, peso e circunferências. O anabolismo proteico foi mensurado utilizando: biópsia muscular, espectroscopia de fluorescência, immunoblotting, CG/MS, LC/MS, ELISA e YSI. Quatro artigos demonstraram aumento do anabolismo significativamente maior no grupo *Whey*, mas em apenas um deles foi feita comparação com placebo isonitrogenado. Três estudos detectaram aumento na hipertrofia muscular significativamente maior no grupo *Whey*, em dois deles o placebo era isonitrogenado. **Discussão:** Dificuldades e falhas metodológicas dos estudos, como pequeno tamanho amostral e tempo de seguimento insuficiente, impossibilitam a afirmação de que diferenças encontradas entre os grupos foram realmente significativas. **Conclusões:** A presente revisão sistemática revelou que o papel do suplemento *Whey Protein* na promoção do anabolismo proteico e da hipertrofia muscular permanece controverso. Pesquisas que comparem esse suplemento com suplementos isonitrogenados ou com uma dieta de valor biológico semelhante são escassas e se fazem necessárias.

Palavras chave: 1. *Whey Protein*. 2. Hipertrofia muscular. 3. Exercício

II. OBJETIVO

Revisar sistematicamente evidências na literatura científica sobre a influência do suplemento *Whey Protein* no anabolismo proteico e na hipertrofia muscular, quando em combinação com o exercício físico, em adultos saudáveis.

III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Recentemente, algumas pesquisas^{10,11,15,17,18,22,25,31,32,37,39} vêm tentando demonstrar as qualidades nutricionais do *Whey Protein*, suplemento constituído por proteínas do soro do leite. Em todos os tipos de leite, a caseína e a proteína do soro formam as duas principais fontes primárias de proteína, representando no leite bovino, respectivamente, cerca de 80 e 20%²⁰.

O *Whey Protein* apresenta quase todos os aminoácidos essenciais em excesso às recomendações, exceto pelos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina) que não aparecem em excesso, mas em quantidades que atendem às recomendações para todas as idades (Ministério da Saúde, 1998). Contém cerca de 26% de aminoácidos de cadeia ramificada ou BCAA (do inglês, *branched-chain amino acids*) e 42,7% de aminoácidos essenciais^{8,16}. Dentre os aminoácidos de cadeia ramificada, é importante destacar a leucina, que aparece em altas concentrações no *Whey Protein* em comparação com outras fontes proteicas, e tem sido objeto de estudo de investigações atuais devido a sua capacidade de ativar vias metabólicas responsáveis pela síntese proteica^{2,34}.

Whey Proteins são facilmente digeríveis e absorvidas pelo trato gastrointestinal, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais, de forma que alguns pesquisadores^{7,13,19} classificaram essas proteínas como proteínas de metabolização rápida, adequadas para situações de estresses metabólicos em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial.

Este conjunto de componentes biológicos e propriedades tornou o *Whey* alvo de investigações sobre a sua efetividade em estimular a síntese proteica e o ganho de massa magra em praticantes de atividades físicas.

IV. REVISÃO DA LITERATURA

IV.1 *Whey Protein* e sua ação no anabolismo proteico

No músculo esquelético humano, o anabolismo e o catabolismo protéico ocorrem simultaneamente, promovendo constantemente alterações na composição protéica das fibras musculares. Essa propriedade inerente de plasticidade é responsável pelo remodelamento das fibras musculares em resposta a diferentes intensidades de atividade física. Assim, um desequilíbrio entre a síntese e a degradação proteica em adultos saudáveis promove um ganho (hipertrofia) ou perda (atrofia) da fibra muscular.

A atividade física provoca diversas alterações fisiológicas no organismo, que incluem liberação de hormônios em resposta ao estresse metabólico e, como consequência, uma diminuição dos estoques de energia, carboidratos, gorduras e proteínas. Esse estado catabólico do organismo durante o exercício é contrabalanceado por uma fase anabólica que se segue ao período de recuperação pós-exercício³⁶.

O aminoácido leucina, presente em grandes quantidades no *Whey* é importante para gerar o sinal que inicia a síntese proteica celular. Esse aminoácido está envolvido na fosforilação reversível de proteínas que controlam a ligação do RNAm com a subunidade ribossômica 40S. A leucina também estimula a fosforilação da proteína quinase S6 ribossomal de 70kDa regulando, assim, a síntese de músculo esquelético através do estímulo tanto da atividade como da síntese de proteínas necessárias para a tradução de RNAm².

A disponibilidade de aminoácidos intracelulares é provavelmente um fator chave na promoção da síntese proteica, embora a concentração extracelular de aminoácidos seja igualmente ou até mais importante⁶. Após a ingestão de proteínas, as concentrações de aminoácidos no plasma aumentam^{3,6,12,29}, enquanto que as concentrações nos tecidos podem aumentar³⁵ ou permanecer inalteradas⁶. As proteínas do soro do leite especificamente induzem um grande aumento nas concentrações de BCAA nos tecidos, em comparação com a proteína de soja³⁵.

IV.2 *Whey Protein* e a promoção de hipertrofia muscular no exercício

O exercício físico, em geral, requer um maior aporte de proteínas, devido a uma maior utilização de aminoácidos como fonte energética no metabolismo. Na atividade física, uma diminuição da disponibilidade de aminoácidos pode limitar o efeito estimulatório da insulina sobre a síntese tecidual de proteínas⁵.

Os possíveis benefícios do *Whey Protein* sobre a hipertrofia muscular podem ser relacionados ao perfil de aminoácidos, principalmente da leucina, à rápida absorção intestinal de seus aminoácidos e peptídeos e à sua ação sobre a liberação de hormônios anabólicos, como, por exemplo, a insulina.

Alguns estudos sugerem que o aumento da massa em resposta ao exercício em homens jovens pode ser incrementado pelo uso de proteína^{1,21}. Em contrapartida, outros estudos não mostraram nenhum efeito^{9,28}. Aumentos mais significantes no tamanho da fibra muscular^{1,21} e no conteúdo de proteína miofibrilar³⁸ têm sido observados quando o exercício é combinado com proteínas ao invés de carboidratos. Porém, nenhum desses estudos incluíram medidas detalhadas do tamanho muscular.

V. METODOLOGIA

V.1 Tipo de pesquisa

Foi realizada uma revisão sistemática, sendo identificados e selecionados estudos relevantes, que tiveram seus dados analisados.

V.2 Estratégia de Pesquisa

O levantamento bibliográfico do estudo foi realizado nos bancos de dados eletrônicos do PubMed, Lilacs e Scielo, entre abril e agosto de 2014.

Foi utilizado o seguinte operador booleano nas bases de dados Lilacs e PubMed: (*hypertrophy OR musc* OR anaboli* OR “fiber growth” OR “body mass”*) and (*“Whey Protein” OR milk OR protein* OR “dietary supplement*”*) AND (*athletes OR activity OR exercise**).

Na base de dados do SCIELO, foi utilizado o seguinte operador booleano: (hipertrofia OR musc* OR anaboli* OR “massa muscular”) AND (“Whey Protein” OR proteína* OR “soro do leite” OR suplemento) AND (atletas OR “atividade física” OR exercício OR esporte).

Para a busca no Pubmed, foram utilizados os filtros: *Controlled Clinical Trial, Clinical Trial, Humans, English, Portuguese, Spanish, Dietary Supplements, Field: Title/Abstract*. Para as demais bases de dados, nenhum filtro foi ativado.

V.3 Critérios de Inclusão

A partir dos títulos dos artigos encontrados, excluímos aqueles que claramente não estavam relacionados ao assunto, e os resumos dos estudos restantes foram lidos. Após essa etapa, foram selecionados para a leitura na íntegra os artigos que obedeceram aos seguintes critérios de inclusão adicionais pré-definidos: 1) Estudos concluídos; 2) Participantes adultos saudáveis; 3) Desfecho medido de forma clara e objetiva. Foram excluídos: 1) Estudos que não se aplicassem à prática de atividade física; 2) Estudos em

que o *Whey Protein* tenha sido consumido apenas em conjunto com outro tipo de suplemento, o que poderia interferir nos desfechos analisados.

Tabelas foram elaboradas para sumarizar as características dos estudos incluídos, informações dos indivíduos investigados e resultados principais de cada pesquisa.

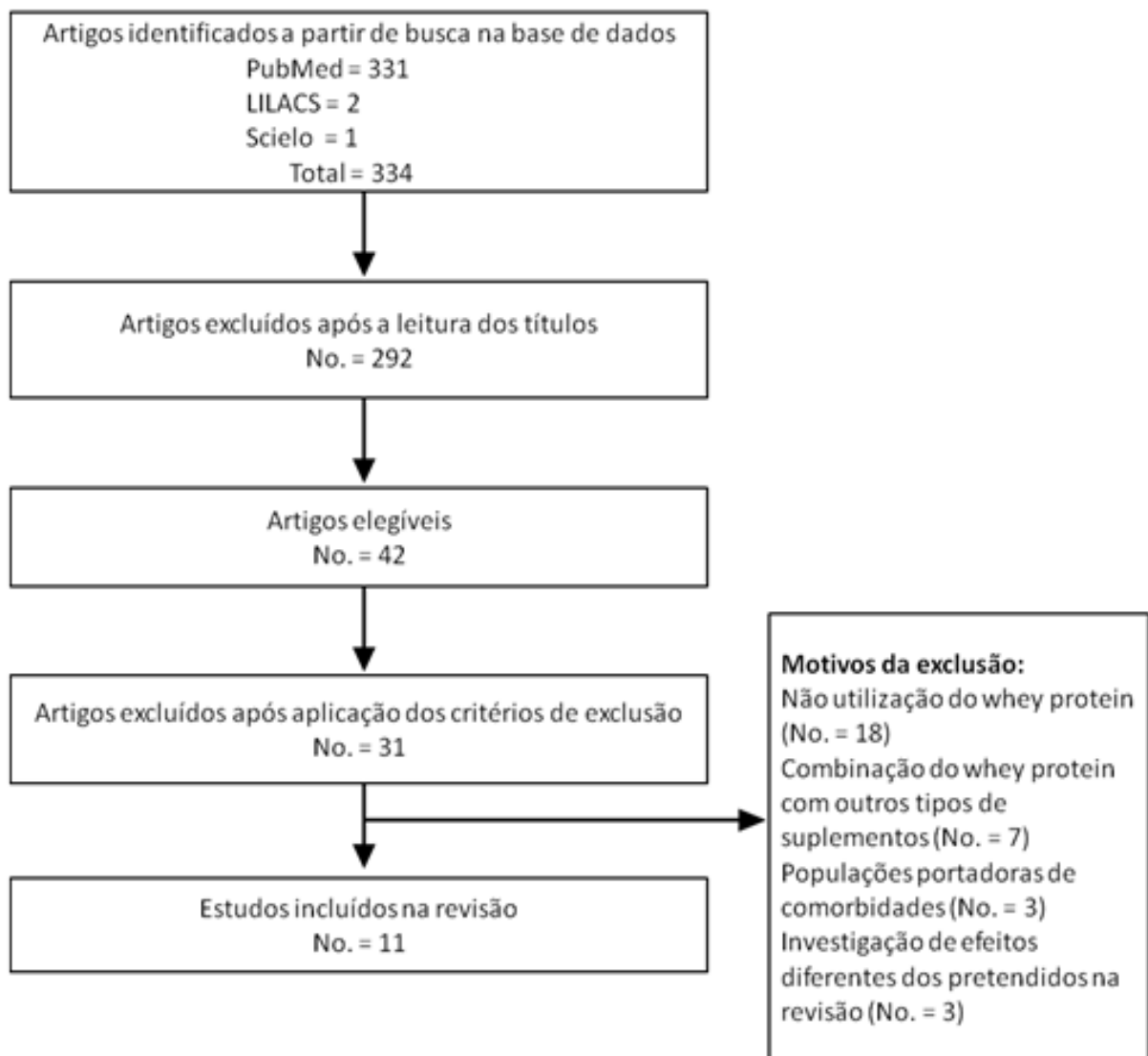
VI. RESULTADOS

VI.1 Seleção dos Estudos

Na busca *online*, inicialmente obtivemos um total de 334 artigos, dos quais 331 foram encontrados na base de dados do PubMed, dois no Lilacs e apenas um no Scielo. Foram excluídos 292 artigos pela leitura dos títulos, que evidenciavam clara inadequação ao tema. Quarenta e dois artigos foram considerados inicialmente elegíveis; após a leitura dos resumos, onze artigos foram finalmente selecionados para leitura completa.

Dentre os artigos excluídos, 18 deles foram eliminados devido à não utilização do *Whey Protein* como suplemento proteico de escolha. Outros 7 artigos foram excluídos por ter sido o *Whey Protein* consumido apenas em conjunto com outro tipo de suplemento. Um total de 3 artigos foram excluídos por estudarem populações de portadores de comorbidades. Também foram excluídos mais 3 artigos por investigarem efeitos diferentes dos pretendidos nessa revisão. A Figura 1 apresenta a síntese do processo de seleção dos artigos.

Figura 1. Fluxograma ilustrativo da busca realizada



VI.2 Características dos Estudos

Dentre os onze estudos selecionados para esta revisão, oito avaliaram os resultados do uso de *Whey Protein* na hipertrofia muscular^{10,11,15,17,22,25,32,37} e seis avaliaram os resultados do uso do *Whey Protein* no anabolismo proteico^{10,11,18,31,37,39} sendo que três dos estudos^{10,11,37} avaliaram ambos os resultados.

Os artigos estudaram um número muito variável de sujeitos (desde $n = 8$ ³² até $n = 147$ ³⁷). A suplementação com *Whey Protein* adotada nos estudos variou bastante, entre uma dose absoluta de 10g até uma dose relativa de 1,5g/kg de peso corporal. O treino realizado consistiu desde apenas algumas séries de exercícios realizadas em apenas um dia^{18,31,39} até uma rotina com duração entre 3 semanas³² e nove meses³⁷, de 2-5 dias na

semana. Em relação ao grupo controle, oito estudos utilizaram carboidrato^{11,17,18,22,25,32,37,39}, e seis estudos usaram outro tipo de suplemento proteico (soja, caseína e creatina, isolados ou combinados)^{10,11,15,25,31,37}. Cinco estudos compararam o *Whey Protein* com um placebo isonitrogenado^{10,15,22,31,37}, nos demais, o grupo controle apresentava ingestão de proteínas inferior ao grupo experimental.

A avaliação dos efeitos foi realizada de forma muito heterogênea. Nos artigos que pesquisaram a hipertrofia muscular como resultado, as medidas foram realizadas através dos seguintes instrumentos: 1) Absorciometria de Raios x de Dupla Energia (DEXA): medida da composição corporal em 50% dos estudos^{10,11,25,37}; 2) Biópsia Muscular: medida do tamanho da fibra muscular¹¹; 3) USG: medida da densidade muscular¹⁷; 4) TC: medida do volume muscular²² 5) RM: medida do volume muscular e área de secção transversal¹⁷ 6) Dobras cutâneas, peso e circunferências: utilizadas para cálculo da massa magra^{15,32}. Já nos artigos que avaliaram o anabolismo proteico como resultado, as medidas foram realizadas através dos seguintes instrumentos: 1) Biópsia muscular: utilizada na maioria dos estudos^{11,18,31,39}; 2) Espectroscopia de fluorescência: medida da concentração de creatina muscular¹¹ e da concentração sanguínea de aminoácidos¹⁰; 3) Immunoblotting: medida da síntese e fosforilação proteica, sinalização anabólica e expressão gênica^{18,31}; 4) Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS): medida da concentração sanguínea de aminoácidos^{5,10}; 5) Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC/MS): medida da concentração sanguínea de aminoácidos³⁷; 6) ELISA: medida da concentração sanguínea de insulina^{31,39} 7) Analisador automático (YSI): medida da concentração sanguínea de glicose, lactato e uréia^{31,39}.

As tabelas 1 e 2 trazem as principais características dos estudos incluídos nessa revisão, que foram divididos de acordo com os resultados investigados. A tabela 1 mostra as características dos estudos que avaliaram a hipertrofia muscular, enquanto que a tabela 2 mostra as características dos estudos que avaliaram o anabolismo proteico.

Em relação à população estudada, em nove artigos os indivíduos pertenciam apenas ao sexo masculino^{10,11,15,17,18,22,25,32,39}, e os outros dois artigos^{31,37} estudaram predominantemente homens. As idades (média±DP) variaram entre 20,7±1,2³² e 34±4 anos¹⁵. O peso dos indivíduos (média±DP) variou entre 61,2±3³¹ e 99±5¹⁵. A altura (média±DP) situou-se entre 171,8±10,3³⁷ e 181±8¹¹. O IMC (média±DP) foi

determinado em apenas quatro artigos, variando entre 22 ± 3 ³² e $25,5\pm 1$ ³¹. Com relação à prática de atividade física, cinco estudos usaram como critério de inclusão indivíduos treinados^{10,11,15,25,39}, enquanto que os outros seis estudos^{17,18,22,31,32,37} incluíram apenas indivíduos destreinados. A tabela 3 sumariza as características basais dos pacientes estudados nos artigos revisados.

Os resultados investigados nos artigos que avaliaram a hipertrofia muscular incluíram: 1) Ganho de massa magra; 2) Aumento da área de secção transversal; 3) Aumento do volume muscular; 4) Hipertrofia fibro-específica. Já os artigos que avaliaram o anabolismo proteico foram analisados nos seguintes aspectos: 1) Síntese e fosforilação proteica / sinalização anabólica / expressão gênica; 2) Concentração sanguínea de aminoácidos (BCAA); 3) Concentração sanguínea de insulina; 4) Concentração sanguínea de glicose / lactato / ureia.

Dentre os seis artigos que analisaram o anabolismo proteico como resultado, quatro foram efetivos em demonstrar um aumento significativamente maior que o placebo^{11,18,37,39}. Porém, em apenas um deles houve comparação com placebo isonitrogenado. Com relação à hipertrofia muscular, foi detectado aumento significativamente maior que o placebo em três estudos^{10,15,37}. Apenas dois deles compararam o *Whey Protein* com placebo isonitrogenado.

As tabelas 4 e 5 apresentam o resultados principais dos estudos que investigaram a hipertrofia muscular e o anabolismo proteico, respectivamente.

VI.3 Qualidade dos Ensaios Clínicos

Os onze estudos incluídos na revisão foram classificados de acordo com a Escala de Jadad²³, que visa avaliar a qualidade metodológica atribuindo pontuação entre 0 e 5. Todos os estudos foram classificados como de boa qualidade (pontuação ≥ 3), com escore médio de 4,27.

Tabela 1- Características gerais dos artigos que avaliaram a hipertrofia muscular como resultado

<i>Artigo</i>	<i>Delineamento</i>	<i>Amostra (n)</i>	<i>Dose/ dia</i>	<i>Treino</i>	<i>Adequação da dieta (sim/não)</i>	<i>Intervenção</i>	<i>Placebo Isonitrogenado (sim/não)</i>	<i>Medida</i>
Cribb PJ et al. (2007)	ECR duplo cego	33	1,5 g/kg	3-5d/sem durante 11 semanas	Sim	G1: WP G2: CHO G3: CR+ CHO G4: CR+WP	Não	-Comp. Corporal (%massa magra): DEXA - Hipertrofia fibro-específica: BM
Cribb PJ et al. (2006)	ECR duplo cego	13	1,5 g/kg	3d/sem durante 10 semanas	Sim	G1: WP G2: CA	Sim	- Comp. Corporal (%massa magra): DEXA
Demling RH et al. (2000)	ECR cegamento não descrito	38	1,5 g/kg	4d/sem durante 12 semanas	Sim	G1: DH + WP G2: DH + CA G3: DH	Sim (G2) / Não (G3)	-Comp. Corporal (%massa magra): Calculada através do peso, DC e idade
Erskine RM et al. (2012)	ECR duplo cego	33	40g	3d/sem durante 12 semanas	Não	G1: WP G2: CHO	Não	-Densidade muscular: USG -Volume muscular e AST: RM
Herda AA et al. (2013)	ECR duplo cego	106	1,0 g/kg	3d/sem durante 8 semanas	Não	G1: WP + leucina / treino baixa int. G2: WP + leucina /treino média int. G3: WP / treino média int. G4: CHO / treino média int. G5: s/ suplementação / treino média int.	Sim (G1 x G2) Não em outras combinações.	-Comp. Corporal (%massa magra): balança hidrostática - Volume muscular: TC
Kerksick CM et al. (2006)	ECR duplo cego	36	40g	4d/sem durante 10 semanas	Não	G1: WP + BCAA + GL G2: WP + CA G3: CHO	Não	-Comp. Corporal (%massa magra): DEXA
Volek JS et al. (2013)	ECR duplo cego	147	1,4g/kg	2-3d/sem durante 9 meses	Sim	G1: WP G2: CHO G3: SO	Sim (G3) / Não (G2)	-Comp. Corporal (%massa magra): DEXA
Sakzenian VM et al. (2009)	ECR cegamento não descrito	8	1g/kg	5d/sem durante 3 semanas	Sim	G1: WP G2: CHO	Não	-Massa muscular: calculada a partir de DC e circunferências

Intervenção: CHO: Carboidrato; WP: *Whey Protein*; CR: Creatina; CA: Caseína; DH: Dieta Hipocalórica; SO: Soja; GL: Glutamina; Medida: DEXA: Absorciometria de Raios x de Dupla Energia; BM: Biópsia Muscular; AST: Área de Secção Transversal; DC: Dobras cutâneas;

Tabela 2 – Características gerais dos artigos que avaliaram o anabolismo proteico como resultado

<i>Artigo</i>	<i>Delineamento</i>	<i>Amostra (n)</i>	<i>Dose/dia</i>	<i>Treino</i>	<i>Adequação da dieta (sim/não)</i>	<i>Intervenção</i>	<i>Placebo Isonitrogenado (sim/não)</i>	<i>Medida</i>
Cribb PJ et al. (2007)	ECR cego	duplo 33	1,5 g/kg	3-5d/sem durante 11 semanas	Sim	G1: WP G2: CHO G3: CR+ CHO G4: CR+WP	Não	-Concentração de creatina muscular: BM e EF
Cribb PJ et al (2006)	ECR cego	duplo 13	1,5 g/kg	3d/sem durante 10 semanas	Sim	G1: WP G2: CA	Sim	- Conc. sanguínea de aminoácidos: EF
Farnfield MM et al. (2009)	ECR cego	duplo 14	28, 65g	1 dia	Não	G1: WP G2: CHO	Não	-Síntese e fosforilação proteica, sinalização anabólica e expressão gênica: BM + IB
Reidy PT et al. (2013)	ECR cego	duplo 19	17,7 ± 0,9g	1 dia	Não	G1: WP G2: WP + CA + SO	Sim	- Síntese e fosforilação proteica: BM + IB - Conc. sanguínea de aminoácidos: CG/MS - Conc. sanguínea de insulina: ELISA - Conc. sanguínea de glicose e lactato: YSI
Volek JS et al. (2013)	ECR cego	duplo 147	1,4 g/kg	2-3d/sem durante 9 meses	Sim	G1: WP G2: CHO G3: SO	Sim (G3) / Não (G2)	- Conc. sanguínea de aminoácidos: LC/MS
Witard OC et al. (2014)	ECR cego	simples 48	0, 10, 20 ou 40g após treino.	1 dia	Sim	G1: 0g WP G2: 10g WP G3: 20g WP G4: 40g WP	Não	- Síntese proteica: BM (+ uso de equação) - Conc. sanguínea de AA: CG/MS - Conc. sanguínea de insulina: ELISA - Conc. sanguínea de glicose e ureia: YSI

Controles: CHO: Carboidrato; WP: *Whey Protein*; CR: Creatina; CA: Caseína; SO: Soja; Medida: IB: Immunoblotting; CG/MS: Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas; LC/MS: Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas; EF: Espectroscopia de Fluorescência; YSI: Analisador automático;

Tabela 3 – Características basais das amostras dos artigos revisados

Artigo	Idade em anos (média±DP)	Gênero masculino (%)	Peso em Kg (média±DP)	Altura em cm (média±DP)	IMC em Kg/m² (média±DP)	Preparo físico
Cribb PJ et al. (2007)	24±5	100%	70±11	181±8	-----	Treinados
Cribb PJ et al. (2006)	27±7	100%	84±5	180±8	-----	Treinados
Demling RH et al. (2000)	34±4	100%	99±5	-----	-----	Treinados
Erskine RM et al. (2012)	23±3	100%	75,2± 10,7	176±6	-----	Destreinados
Farnfield MM et al. (2009)	21,9±0,8	100%	76,2± 2,8	176,7± 2,7	24,5± 1,1	Destreinados
Herda AA et al. (2013)	21,1±2,5	100%	78,3± 13,7	176,9± 6,8	-----	Destreinados
Kerksick CM et al. (2006)	31±8	100%	84,0± 12,9	179,1±8	-----	Treinados
Reidy PT et al. (2013)	25,1±1,2	89,5%	61,2± 3,0	-----	25,5±1,0	Destreinados
Volek JS et al. (2013)	22,8±3,7	M/F (% não fornecida)	74,1± 15,7	171,8± 10,3	-----	Destreinados
Witard OC et al. (2014)	22±3	100%	83±7	182±5	25±2	Treinados
Sakzenian VM et al. (2009)	20,7±1,2	100%	67,4± 13,4	174±5,5	22±3	Destreinados

Tabela 4- Resultados principais dos artigos que avaliaram a hipertrofia muscular

<i>Artigo</i>	<i>Ganho de massa magra (kg)</i>	<i>Aumento da AST</i>	<i>Aumento do volume muscular</i>	<i>Hipertrofia Fibro-específica</i>	<i>Conclusões</i>
Cribb PJ et al. (2007)	G1: +2,3 G2: +0,7 G3: +3,7 G4: +3,4	-----	-----	Fibras tipo I e II: G3 e G4 > G2 (P<0,05) Fibras tipo I: G3 e G4 > G1 (P<0,05) Fibras tipo IIa e IIx: G1 > G2 (P=0,077 e P=0,078 respectivamente)	- Aumento do tamanho da fibra muscular em todos os grupos, porém G1 foi maior apenas do que G2. -Ganho de massa magra em todos os grupos. Não houve diferença significativa entre G1, G3 e G4. Apenas G3 significativamente maior que G2.
Cribb PJ et al. (2006)	G1: Pré = 67,1 ±2,7/ Pós = 72,1±2,8 G2: Pré = 62,5±2,4/Pós = 63±2,3	-----	-----	-----	- Ganho de massa magra significativamente maior em G1.
Demling RH et al. (2000)	G1: 2 ± 0,7 G2: 4 ± 1,4 G3: 0	-----	-----	-----	- Ganho de massa magra significativamente maior em G1 em relação a G3. Porém. G2 foi significativamente maior em relação a G1.
Erskine RM et al (2012)	-----	G1: 16,2% ± 7,1% G2: 15,6% ± 4,4%	G1: 17 ± 7,1% G2: 14,9 ± 4,6%	-----	- Não houve diferença significante entre G1 e G2.
Herda AA et al (2013)	G1 : Pré = 63,4 ± 1,8 /Pós = 64,6 ± 1,7 G2 : Pré = 64,2 ± 1,9/Pós = 65,3 ± 2 G3: Pré = 64,2 ± 2/Pós = 65,2 ± 2 G4: Pré = 64,7 ± 1,7/Pós = 65,8 ± 1,6 G5: Pré = 64,6 ± 1,9 /Pós = 66,6 ± 2,1	G1: Pré = 149 ± 4,8 / Pós = 153,4 ± 4,6 G2: Pré= 149,4 ± 5,2 / Pós = 156,2 ± 5,4 G3: Pré= 151,3 ± 5,1 Pós = 158,9 ± 4,9 G4: Pré= 155,7 ± 5,5 / Pós = 162,8 ± 5,6 G5: Pré=150,9 ± 3,6 / Pós = 158,2 ± 3,6	-----	-----	- Aumento da massa magra e da AST em todos os grupos, independentemente da suplementação.
Kerksick CM et al. (2006)	G1: -0,1 ± 0,3 G2: 1,9 ± 0,6 G3 : 0,0 ± 0,9	-----	-----	-----	- Ganho de massa magra : significativamente maior em G2 em relação a G1 e G3.
Volek JS et al. (2013)	G1: 3,3 ± 1,5 G2: 2,3 ± 1,7 G3: 1,8 ± 1,6	-----	-----	-----	- Ganho de massa magra: significativamente maior em G1 em relação a G2 e G3.
SakzenianVM et al. (2009)	Massa muscular total : G1 : 39,6 ± 9,0	-----	-----	-----	- Ganho de massa magra: Não houve diferença significante entre G1 e G2.

G2 : 39,8 ± 4,8

Tabela 5 – Resultados principais dos artigos que avaliaram o anabolismo proteico

<i>Artigo</i>	<i>Síntese e fosforilação proteica/ sinalização anabólica/ expressão gênica</i>	<i>Conc. sanguínea de aminoácidos:</i>	<i>Conc. sanguínea de insulina</i>	<i>Conc. sanguínea de glicose/ lactato/ ureia</i>	<i>Conclusões</i>
Cribb PJ et al. (2007)	- Aumento aproximado do conteúdo de proteína contrátil (mg/g): G1 = 20 / G2 = 8 / G3 = 30 / G4 = 30	-----	-----	-----	- G1, G3 e G4 apresentaram um maior aumento no conteúdo de proteína contrátil, em comparação com G2. Esse aumento foi menor em G1, em comparação com G3 e G4.
Cribb PJ et al. (2006)	-----	Glutamina: G1: Pré = 0,76 ± 0,24 / Pós = 0,66 ± 0,19 G2: Pré = 0,57 ± 0,24 / Pós = 0,63 ± 0,33	-----	-----	- Não houve alterações significantes na concentração plasmática de glutamina em ambos os grupos.
Farnfield MM et al. (2009)	Fosforilação mTOR, p70 ^{S6k} , 4 ^E -BP1 : G1>>G2 (2h pós exercício) -Fosforilação Akt (Ser ⁴⁷³): G1 e G2 inalterados.	-----	-----	-----	- Até 2h após exercício, G1 apresentou aumento significativa na sinalização e síntese proteica em relação a G2. Porém, não há evidência sobre a persistência de ação após 4 e 24h.
Reidy PT et al. (2013)	Síntese proteína miofibrilar: Período imediato: G1 = 0,078 ± 0,009% / G2 = 0,088 ± 0,007% Período tardio: G1 = 0,074 ± 0,01% / G2 = 0,087 ± 0,003%	- BCAA total: G1>G2 em 40 e 60 min após, e G2>G1 180 min após.	G1: elevada até 60 min após G2: elevada até 40 min após	- Lactato: G1: elevado até 80 min após G2: elevado até 60 min após - Glicose: inalterada em G1 e G2	- G1 apresentou pico maior e mais precoce na conc. sang. de BCAA. Porém, em G2 essa conc. permaneceu elevada por mais tempo. - Síntese proteica miofibrilar aumentou de forma equivalente em ambos os grupos.
Volek JS et al. (2013)	-----	Leucina : G1 : ↑20% G2 e G3 : inalterados.	-----	-----	- Houve aumento significativo de leucina plasmática apenas em G1.
Witard OC et al. (2014)	Síntese proteína miofibrilar : aumento em todos os grupos. Significante em G3 e G4 (49% e 56% maior que em G1, respectivamente)	-Leucina e fenilalanina: G1 e G2 = pico em 30 min; G3 e G4 = pico em 60	G1 < G2 < G3 < G4	-Ureia: G1 < G2 < G3 < G4	- Síntese de proteína miofibrilar aumentou de forma equivalente em todos os grupos. G1 menor que G3 e G4. - Uma dose de 20g de WP é suficiente para a estimulação máxima da síntese de proteína miofibrilar. Uma dose >20g

	min	estimula a oxidação de aminoácidos e ureagênese.
--	-----	--------------------------------------------------

VII. DISCUSSÃO

O tema estudado no presente artigo apresenta-se como de grande relevância e atualidade. É notável a crescente popularização dos suplementos proteicos nos últimos anos, em especial do *Whey Protein*, cujo uso vem se tornando cada vez mais prevalente na população praticante de atividade física. Entretanto, o assunto permanece ainda pouco estudado, tendo sido selecionados apenas onze ensaios clínicos que procuraram demonstrar os possíveis efeitos anabólicos decorrentes da utilização desse tipo de suplemento. Quase a totalidade dos artigos analisados (91%) foram publicados nos últimos dez anos.

Ao revisarmos a composição do suplemento proteico *Whey Protein*, fica evidente o motivo pelo qual o seu uso tem se disseminado amplamente. Além do seu perfil rico em aminoácidos essenciais, o *Whey* é conhecido também por sua rápida digestão e absorção, e pela capacidade de aumentar significativamente as concentrações de leucina no sangue^{7,25,26}. De forma prática, pode ser ingerido a qualquer momento, sendo uma alternativa para a complementação das proteínas da dieta. Em decorrência disso, atletas e praticantes de atividade física em geral têm utilizado o *Whey* com o objetivo de obter maiores ganhos de massa magra.

Entretanto, ao analisarmos os resultados obtidos nessa revisão, fica claro que as pesquisas atuais ainda não são suficientes para demonstrar se os benefícios teóricos do *Whey* realmente se traduzem em ganhos que justifiquem o seu uso por indivíduos jovens e saudáveis, que realizam prática de exercícios. O que é possível afirmar em todos os experimentos é a relação da atividade física com a hipertrofia muscular. Somente o exercício de força já é um estímulo suficiente para que a síntese de proteína miofibrilar se eleve.

A suplementação com *Whey Protein* adotada nos estudos variou bastante, entre uma dose absoluta de 10g até uma dose relativa de 1,5g/kg de peso corporal. Independentemente da dose, ocorreu hipertrofia muscular em todos os casos, porém esse aumento foi significativamente maior que o placebo apenas em três estudos^{10,15,37}. Esses estudos utilizaram, respectivamente, as dosagens de 1,5g/kg/dia, 28,65g (em média 0,3g/kg, em apenas uma intervenção) e 1,4g/kg/dia. Em todos eles, foi realizada a adequação da alimentação, tanto no grupo controle como placebo, tendo os voluntários

recebido quantidades adequadas de calorias, proteínas, carboidratos e outros nutrientes. Portanto, como o grupo placebo não foi privado de nutrientes essenciais para a síntese de proteínas miofibrilares, tornou-se mais passível de comparação em relação ao grupo que sofreu a intervenção com o *Whey Protein*. Em dois dos artigos, o aumento da hipertrofia muscular ocorreu em relação a placebos isonitrogenados, o que garante que, nesses estudos, as diferenças obtidas entre os grupos não ocorreram apenas devido a uma diferença no consumo de proteínas.

Segundo Cribb e colaboradores (2006), o *Whey Protein* se mostrou superior à caseína, atuando de forma significativa na elevação das concentrações sanguíneas de aminoácidos e no aumento da massa magra. Em oposição, Demling e colaboradores (2000) obtiveram como resultado um aumento de massa magra maior no grupo que recebeu a caseína como placebo isonitrogenado, apesar do *Whey* se mostrar superior ao grupo que não consumiu nenhum suplemento. Volek e colaboradores (2013), por sua vez, mostraram que o grupo *Whey* foi o único que apresentou aumento de leucina plasmática, o que relacionam com o aumento de massa magra, que foi superior tanto em relação ao grupo que recebeu carboidratos, como em relação ao grupo que recebeu a soja como placebo isonitrogenado.

Herda e colaboradores (2013) estudaram uma população de 106 indivíduos, que foram divididos em cinco grupos: dois grupos ingeriram *Whey Protein “bioenhanced”* (20g de *Whey Protein* + 7g de leucina), um grupo usou apenas *Whey Protein* (20g), outro grupo ingeriu placebo (carboidrato) e o quinto grupo não usou nenhum suplemento. Todos realizaram treinos de média intensidade, com exceção de um dos grupos “*bioenhanced*”, que realizou treino de baixa intensidade. Ao final de 8 semanas, não foi detectada diferença significativa na hipertrofia muscular entre os grupos, sugerindo que o suplemento protéico não promove benefícios adicionais em indivíduos jovens e saudáveis. Com base nestes resultados, também podemos concluir que nesse estudo o acréscimo de leucina não foi capaz de otimizar os ganhos de massa magra.

Um dos estudos³⁹ avaliou os efeitos da suplementação com o *Whey Protein* em diferentes doses (0, 10, 20 e 40g), tendo sido observado aumento da síntese de proteína miofibrilar em todos os grupos, inclusive naquele que não recebeu suplementação, o que evidencia a relação do exercício físico com o aumento do anabolismo protéico. Nesse estudo, notou-se que a taxa de síntese proteica muscular após uma sessão de exercícios

aumentava proporcionalmente à dose de proteína suplementada. Entretanto, 20g de *Whey Protein* mostrou-se suficiente para a estimulação máxima da síntese de proteína miofibrilar, e uma dose acima desta provocou como efeito indesejado o aumento da ureagênese.

A recomendação diária de proteínas para a população geral e saudável é de 0,8-2,0 g/kg de peso, e de leucina especificamente corresponde a 14mg/kg de peso (Ministério da Saúde, 1998). Koopman e colaboradores (2005) verificaram que uma dose de 30mg/kg de peso de leucina após a realização de exercícios físicos são suficientes para a geração de estímulo para a síntese muscular. O consumo de valores acima do recomendado caracteriza uma dieta hiperprotéica, que pode alterar o equilíbrio nutricional e provocar efeitos adversos a longo prazo. Foram referidas na literatura diversas alterações decorrentes de uma dieta hiperprotéica, destacando-se desordens renais, hepáticas, ósseas e vasculares¹⁴. Dentre elas, podemos citar: hipercalcúria e hiperuricosúria, ambas fatores de risco para a litíase renal; diminuição no balanço de cálcio, que gera perda óssea e aumenta a incidência de fraturas; elevação nas transaminases e hiperalbuminemia; aumento da aterogênese e progressão mais acelerada da doença arterial coronariana.

Herda e colaboradores (2013) comprovaram que, a curto prazo, não há efeitos adversos renais ou hepáticos de uma dieta hiperprotéica em indivíduos que fazem suplementação com *Whey Protein*. Porém, pesquisas a longo prazo ainda precisam ser realizadas.

Ademais, é importante frizarmos algumas dificuldades e falhas metodológicas encontradas nos estudos. Por exemplo, o pequeno tamanho amostral utilizado na maioria dos artigos revisados é um fator limitante, visto que dificulta a comparação entre os grupos, impossibilitando a afirmação de que as diferenças encontradas foram realmente significativas. Além disso, o tempo de seguimento variou de apenas 1 dia até 9 meses, sendo inferior a 3 meses na quase totalidade dos estudos (91%). Portanto, estudos pós- intervenção tornam-se necessários para determinar se os possíveis ganhos obtidos com o aumento da hipertrofia muscular permanecem a longo prazo. Outra limitação é o fato de que, na maioria dos estudos, os voluntários eram responsáveis por administrarem sua própria suplementação, o que levanta o questionamento sobre a confiabilidade dos dados. Há também uma grande variabilidade dos instrumentos de

medida, tanto relativas à hipertrofia muscular, como ao anabolismo proteico, o que dificulta a comparação dos resultados.

Um questionamento importante que deve ser considerado antes de se optar pelo uso desse suplemento é: será que o consumo de *Whey* é realmente vantajoso no aumento do anabolismo proteico e da hipertrofia muscular, em comparação com ingestão da mesma quantidade de nutrientes através da dieta? Esta pergunta não pôde ser respondida na presente revisão, já que nenhum estudo se propôs a comparar os efeitos da ingestão do *Whey Protein* com alimentos de valor biológico semelhante.

Porém, também há pontos positivos que podem ser destacados e estes incluem a boa qualidade dos ensaios clínicos, avaliados segundo o método de Jadad³⁹. Este método é de simples e fácil aplicação, sendo utilizado para verificar se há risco de viés importante, através de três critérios básicos: 1) Randomização; 2) Duplo-cego; 3) Descrição de perdas de pacientes durante e após o estudo. Além disso, as amostras utilizadas nos artigos são bastante comparáveis, por apresentarem-se relativamente padronizadas com relação a idade (adultos jovens), sexo (predominantemente masculino), peso, altura e IMC. Porém, foram heterogêneas em relação ao preparo físico. É importante observarmos que, em nove dentre os onze artigos selecionados, 100% da população estudada foi formada por indivíduos do sexo masculino. Apenas dois artigos incluem mulheres que, ainda assim, representam uma porcentagem inferior aos homens, o que mostra que o tema precisa ser melhor estudado em indivíduos do sexo feminino.

VIII. CONCLUSÕES

1. A presente revisão sistemática mostrou que o papel do suplemento *Whey Protein* na promoção do anabolismo proteico e da hipertrofia muscular permanece controverso.
2. O que é possível afirmar em todos os experimentos é a relação da atividade física com o estímulo à síntese de proteína miofibrilar.
3. Apesar da grande popularização do uso do *Whey Protein*, ainda existem poucos ensaios clínicos que analisaram seus efeitos em praticantes de atividades físicas, sendo necessários mais estudos sobre o tema.
4. Dificuldades e falhas metodológicas encontradas na maioria dos estudos, como pequeno tamanho amostral, tempo de seguimento insuficiente e utilização de placebo com teor de proteínas inferior ao grupo *Whey* impossibilitam a afirmação de que diferenças encontradas entre os grupos foram realmente significativas.
5. Estudos pós- intervenção tornam-se necessários para determinar se os possíveis ganhos obtidos com o aumento da hipertrofia muscular permanecem a longo prazo.
6. A curto prazo, não foram comprovados efeitos adversos renais ou hepáticos decorrentes do uso de *Whey Protein*. Porém, é preciso ter cautela na utilização desse suplemento, pois pesquisas a longo prazo ainda precisam ser realizadas.
7. São necessários mais estudos que comparem o *Whey Protein* com alimentos de valor biológico semelhante, o que seria importante para demonstrar se a suplementação é realmente vantajosa, ou se uma dieta equilibrada é o suficiente para a promoção do anabolismo proteico e da hipertrofia muscular.

IX. SUMMARY

Effects of *Whey Protein* supplementation in protein anabolism and muscle hypertrophy in physical activity practitioners: a systematic review. The *Whey Protein* have high nutritional values and high content of essential amino acids, especially branched chain amino acids. Researchers have sought to demonstrate its applicability in the exercise, with possible beneficial effects on protein synthesis and muscle hypertrophy. **Objective:** To review systematically the evidence in scientific literature about the influence of *Whey Protein* in the protein anabolism and muscle hypertrophy, when combined with exercise in healthy adults. **Method:** We searched scientific articles in PubMed, Lilacs and Scielo databases. There was an initial selection by title and then by reading the summaries. Inclusion criteria: completed studies, healthy adult participants, clear and objective measures. **Results:** Eleven controlled trials were included. Eight articles evaluated the effect of *Whey Protein* in muscle hypertrophy and six articles evaluated its effect on protein anabolism. Muscle hypertrophy was measured by: DEXA, muscle biopsy, ultrasonography, CT, MRI, skinfold thickness, weight and circumferences. Protein anabolism was measured using: muscle biopsy, fluorescence spectroscopy, immunoblotting, GC / MS, LC / MS, ELISA and YSI. The *Whey Protein* group achieved a significant greater gain on protein anabolism in four articles, but only one of them compared *Whey Protein* with isonitrogenous placebo. Three studies found significantly greater muscle hypertrophy in the *Whey* group ; in two of them, *Whey Protein* was compared with isonitrogenous placebo. **Discussion:** Difficulties and methodological shortcomings of studies, such as small sample size and short follow-up time, make it impossible to claim that differences between the groups are clinically meaningful. **Conclusions:** This systematic review revealed that the role of *Whey Protein* in protein anabolism and muscle hypertrophy is controversial. Research comparing this supplement with isonitrogenous supplements or a similar biological value diet are scarce and are necessary.

Key words: 1. Whey Protein 2. Muscle hipertrophy 3. Training

X. REFERÊNCIAS

1. Andersen LL, Tufekovic G, Zebis MK, et al. The effect of resistance training combined with timed ingestion of protein on muscle fiber size and muscle strength. *Metabolism*. 2005;54(2):151–6.
2. Anthony JC, Anthony TG, Kimball SR, Jefferson LS. Signaling Pathways Involved in Translational Control of Protein Synthesis in Skeletal Muscle by Leucine. *The Journal of Nutrition*. 2001; 131(3): 856S-860S.
3. Arnal MA, Mosoni L, Boirie Y, Gachon P, Genest M, Bayle G, Grizard J, Arnal M, Antoine JM, Beaufrere B, Patureau Mirand P. Protein turnover modifications induced by the protein feeding pattern still persist after the end of the diets. *Am J Physiol* 2000;278:E902–E909.
4. Bergstrom J, Furst P, Noree LO, Vinnars E. Intracellular free amino acid concentration in human muscle tissue. *J. Appl Physiol* 1974;39: 693–7.
5. Biolo G, Williams BD, Fleming RYD, Wolfe RR. Insulin actin on muscle protein kinetics and amino acid transport during recovery after resistance exercise. *Diabetes* 1999; 48:949-57.
6. Bohe J, Low A, Wolfe RR, Rennie MJ. Human muscle protein synthesis is modulated by extracellular but not intracellular amino acid availability. *J Physiol*.
7. Boirie Y, Dangin M, Gachon P, Vasson MP, Maubois JL, Beaufrère B. Slow and fast dietary proteins differently modulate post-prandial protein secretion. *Proc Nat Acad Sci (USA)* 1997; 94:14930-5.
8. Bos C, Gaudichon C, Tome D. Nutritional and physiological criteria in the assessment of milk protein quality for humans. *J Am Coll Nutr* 2000;19:191S–205S.

9. Coburn JW, Housh DJ, Housh TJ, et al. Effects of leucine and *Whey Protein* supplementation during eight weeks of unilateral resistance training. *J Strength Cond Res.* 2006;20(2):284–91.
10. Cribb PJ, Williams AD, Carey MF, Hayes A. The effect of *Whey* isolate and resistance training on strength, body composition, and plasma glutamine. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2006 Oct;16(5):494-509.
11. Cribb PJ, Williams AD, Stathis CG, Carey MF, Hayes A. Effects of *Whey* isolate, creatine, and resistance training on muscle hypertrophy. *Med Sci Sports Exerc.* 2007 Feb;39(2):298-307.
12. Dangin M, Boirie Y, Garcia-Rodenas C, Gachon P, Fauquant J, Callier P, Ballevre O, Beaufreere B. The digestion rate of protein is an independent regulating factor of post-prandial protein retention. *Am J Physiol (Endocrinol Metab)* 2001;280:E340–E348.
13. Dangin M, Boirie Y, Garcia-Rodena C, Gachon P, Fauquant J, Callier P, *et al.* The digestion rate is an independent regulating factor of post prandial protein retention. *Am J Physiol Endocrin Metab* 2001; 280:E340-E8.
14. Delimaris, I. Adverse Effects Associated with Protein Intake above the Recommended Dietary Allowance for Adults. *ISRN Nutrition* 2013 Jun ; 2013 : 6.
15. Demling RH, Desanti L. Effect of a hypocaloric diet, increased protein intake and resistance training on lean mass gains and fat mass loss in overweight Police officers. *Ann Nutr Metab.* 2000;44(1):21-9.
16. Dillar CJ, Walzem RL, German JB. *Whey* components: Millennia of Evolution create functionalities for mammalian nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2002 July (in press).
17. Erskine RM, Fletcher G, Hanson B, Folland JP. *Whey Protein* does not enhance the adaptations to elbow flexor resistance training. *Med Sci Sports Exerc.* 2012 Sep;44(9):1791-800.

18. Farnfield MM, Carey KA, Gran P, Trenerry MK, Cameron-Smith D. *Whey Protein* ingestion activates mTOR-dependent signalling after resistance exercise in young men: a double-blinded randomized controlled trial. *Nutrients*. 2009 Feb;1(2):263-75.
19. Frühbeck G. Slow and fast dietary proteins. *Nature* 1998, 39:843-5.
20. Ha E, Zemel MB. Functional Properties of *Whey*, *Whey* Components, and Essential Amino Acids: Mechanisms Underlying Health Benefits for Active People (review). *The Journal of nutritional biochemistry* 2003 ; 14 (5): 251-258.
21. Hartman JW, Tang JE, Wilkinson SB, et al. Consumption of fatfree fluid milk after resistance exercise promotes greater lean mass accretion than does consumption of soy or carbohydrate in young, novice, male weightlifters. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(2):373–81.
22. Herda AA, Herda TJ, Costa PB, Ryan ED, Stout JR, Cramer JT. Muscle performance, size, and safety responses after eight weeks of resistance training and protein supplementation: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *J Strength Cond Res*. 2013 Nov;27(11):3091-100.
23. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, Mcquay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12.
24. Kenji F, Deharaguchi WC, Deabreu H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana - *Whey Protein*: composition, nutritional properties, applications in sports and benefits for human health - *Rev. Nutr.*; 19(4); 479-488; 2006-08
25. Kerksick CM, Rasmussen CJ, Lancaster SL, Magu B, Smith P, Melton C, Greenwood M, Almada AL, Earnest CP, Kreider RB. The effects of protein and amino acid supplementation on performance and training adaptations during ten weeks of resistance training. *J Strength Cond Res*. 2006 Aug;20(3):643-53.
26. Kinsella JE, Whitehead DM. Proteins in *Whey*: chemical, physical and functional properties. *Adv Foods Nutr Res*. 1989; 33:343-438.

27. Koopman R, Verdijk L, Manders RJF, Gijsen AP, Gorselink M, Pijpers E, Wagenmakers AJM, Van-Loon LJC. Co-Ingestion of protein and leucine stimulates muscle protein synthesis rates to the same extent in young and elderly lean men. *American Journal Clinical Nutrition*, Maastricht. Vol. 84. Num. 3. 2006. p. 623-632.
28. Lemon PW, Tarnopolsky MA, Macdougall JD, Atkinson SA. Protein requirements and muscle mass/strength changes during intensive training in novice bodybuilders. *J Appl Physiol*. 1992; 73(2):767-75.
29. Levenhagen DK, Carr C, Carlson MG, Maron DJ, Borel MJ, Flakoll PJ. Postexercise protein intake enhances whole-body and leg protein accretion in humans. *Med Sci Sports Ex* 2002;34:828-37.
30. Markus CR, Oliver B, De Haan EHF. *Whey Protein* rich in alfa-lactoalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subjects. *Am J Clin Nutr*. 2002; 75(6):1051-6.
31. Reidy PT, Walker DK, Dickinson JM, Gundermann DM, Drummond MJ, Timmerman KL, Fry CS, Borack MS, Cope MB, Mukherjea R, Jennings K, Volpi E, Rasmussen BB. Protein blend ingestion following resistance exercise promotes human muscle protein synthesis. *J Nutr*. 2013 Apr;143(4):410-6
32. Sakzenian VM, Maestá N, Castanho, GKF, Michelin E, Orsatti FL, Moraes JE; Sales MD, Buscariolo FF, Burini RC. Effect of supplementation with *Whey Protein* on body composition of young bodybuilders training for muscle hypertrophy. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr*. 2009 Dez; 34(3): 57-70.
33. Tang JE, Moore DR, Kujbida GW, Tarnopolsky MA, Phillips SM. Ingestion of *Whey* hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *Journal of Applied Physiology* 2009 Sep; 107(3): 987-992.

34. Tawa NE, Goldberg AL. Suppression of Muscle Protein Turnover and Amino Acid Degradation by Dietary Protein Deficiency. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 1992 ; 263(2): 317

35. Tipton KD, Gurkin BE, Matin S, Wolfe RR. Nonessential amino acids are not necessary to stimulate net muscle protein synthesis in healthy volunteers. *J Nutr Biochem* 1999;10:89–95.

36. Tipton KD, Wolfe RR. Exercise-induced changes in protein metabolism. *Acta Physiol Scand* 1998;162:377–87.

37. Volek JS, Volk BM, Gómez AL, Kunces LJ, Kupchak BR, Freidenreich DJ, Aristizabal JC, Saenz C, Dunn-Lewis C, Ballard KD, Quann EE, Kawiecki DL, Flanagan SD, Comstock BA, Fragala MS, Earp JE, Fernandez ML, Bruno RS, Ptolemy AS, Kellogg MD, Maresh CM, Kraemer WJ. *Whey Protein* supplementation during resistance training augments lean body mass. *J Am Coll Nutr*. 2013;32(2):122-35

38. Willoughby DS, Stout JR, Wilborn CD. Effects of resistance training and protein plus amino acid supplementation on muscle anabolism, mass, and strength. *Amino Acids*. 2007;32(4):467–77.

39. Witard OC, Jackman SR, Breen L, Smith K, Selby A, Tipton KD. Myofibrillar muscle protein synthesis rates subsequent to a meal in response to increasing doses of *Whey Protein* at rest and after resistance exercise. *Am J Clin Nutr*. 2014 Jan;99(1):86-95.