

RAFAELA SILVÉRIO PINTO

O efeito da baixa disponibilidade energética, com teores variados de proteína, no metabolismo ósseo e na resposta ao exercício em adultos jovens e saudáveis

SÃO PAULO

2024

RAFAELA SILVÉRIO PINTO

O efeito da baixa disponibilidade energética, com teores variados de proteína, no metabolismo ósseo e na resposta ao exercício em adultos jovens e saudáveis

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético

Orientadora: Dra. Eimear Bernadette Dolan

(Versão corrigida. Resolução CoPGr. nº 6018, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na biblioteca da FMUSP)

SÃO PAULO

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pinto, Rafaela Silvério

O efeito da baixa disponibilidade energética, com teores variados de proteína, no metabolismo ósseo e na resposta ao exercício em adultos jovens e saudáveis / Rafaela Silvério Pinto; Eimear Bernadette Dolan, orientador. -- São Paulo, 2024.

Tese (Doutorado) -- Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2024.

1.Deficiência energética relativa no esporte 2.Ingestão de proteína 3.Necessidade energética 4.Metabolismo energético 5.Saúde óssea I.Dolan, Eimear Bernadette, orient. II.Título

USP/FM/DBD-359/24

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

Autor: Rafaela Silvério Pinto

Título: O efeito da baixa disponibilidade energética, com teores variados de proteína, no metabolismo ósseo e na resposta ao exercício em adultos jovens e saudáveis

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Eimear Dolan pela inspiração, apoio, ensinamentos, cuidado e toda dedicação durante esses anos de projeto para melhor me desenvolver como profissional. Serei eternamente grata por todos os ensinamentos e atenção.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa, que sempre contribuíram e me incentivaram em cada etapa. Estiveram dispostos a ajudar e compartilhar conhecimentos. Em especial à Nathália Saffioti, Luisa Perfeito, Letícia Takarabe, Gabriel Esteves e Bruna Aguera que apoiaram com tanta atenção e amizade e contribuíram para a melhor execução dos testes.

Ao Dr. Bryan Saunders e Dra. Luana Saunders por toda ajuda, disponibilidade e ensinamentos no laboratório de exercício da EEFE.

À técnica Viviane por toda ajuda, carinho e amizade durante as análises no laboratório da FMUSP.

À todo o grupo Applied Physiology pelo ambiente de grande aprendizado e experiências compartilhadas.

À todo o pessoal de serviço da Pós-Graduação da Universidade de São Paulo.

As minhas grandes amigas Aline David e Lisandra pelo apoio, inspiração e incentivo.

Em especial, meu imenso agradecimento aos meus pais que sempre me incentivaram a estudar, me proporcionaram oportunidades de dedicar meu tempo aos estudos e me apoiaram em minhas escolhas. E ao meu irmão Guilherme que me apoia em cada desafio e conquista.

E meu agradecimento mais profundo à Deus, que me guiou nesse caminho, possibilitou grandes experiências, força, ânimo e o encontro com as pessoas maravilhosas citadas, me permitindo realizar mais um sonho de vida.

RESUMO

Pinto RS. O efeito da baixa disponibilidade energética, com teores variados de proteína, no metabolismo ósseo e na resposta ao exercício em adultos jovens e saudáveis [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2024.

Evidências indicam que a baixa disponibilidade energética (BDE) pode prejudicar o metabolismo ósseo, reduzindo a taxa de formação óssea e aumentando a taxa de reabsorção. Em teoria, a ingestão de proteína em condições de BDE poderia atenuar essas consequências, mas há poucas evidências sobre a eficácia dessa estratégia.

OBJETIVO: O objetivo deste estudo é investigar o efeito da breve exposição às dietas com BDE, mas com teores variados em proteína, na resposta metabólica óssea frente à realização de exercício, assim como, os efeitos no metabolismo e desempenho esportivo em homens e mulheres. **MÉTODOS:** Foram estudados nove mulheres e dez homens saudáveis, fisicamente ativos, com idades entre 18 e 40 anos. A pesquisa incluiu cinco sessões experimentais. Na primeira sessão, foi realizado o teste de VO_2 máximo para determinar a intensidade dos exercícios nas sessões experimentais. Na segunda sessão, foram coletados dados de composição corporal e realizada a familiarização com o teste (45 minutos de ciclismo a 65% da capacidade máxima seguido por um teste de Wingate). As três sessões experimentais subsequentes foram realizadas em ordem aleatória, com os participantes submetidos a três condições dietéticas: balanço energético (BE: 45 kcal/kg MLG/dia), BDE (15 kcal/kg MLG/dia) com todos os macronutrientes reduzidos em uma forma proporcional, e BDE com ingestão proteica mantida igual ao BE (BDE-P). Cada condição experimental durou cinco dias, começando com a chegada dos participantes ao laboratório em jejum para a medição da TMR, seguida de café da manhã, exercício, e coleta de sangue antes, durante e após o teste, com novas coletas 1 e 2 horas após o exercício. Seguiram com a dieta fornecida pelos próximos quatro dias e retornaram no dia 5 para repetir os mesmos processos. As amostras de sangue foram utilizadas para avaliar biomarcadores de formação (P1NP) e reabsorção óssea (CTX-1), e a análise de gases respiratórios mediu o metabolismo em repouso e durante o exercício. O desempenho físico foi avaliado por meio do teste Wingate. **RESULTADOS:** Uma análise visual de resultados indicou uma tendência para um maior aumento no CTX-1, e maior redução de P1NP após a dieta BDE-P, apesar de que a análise estatística de AUC não indicou uma diferença significativa entre as condições ($p > 0.05$). A BDE e BDE-P favoreceu a oxidação de gordura ($p=0,0025$) em repouso com taxas maiores do que a oxidação de carboidrato ($p=0,0025$). O desempenho físico, avaliado pelo trabalho total, foi mais baixo na

condição de BDE-P, em comparação às outras duas condições ($p=0,04$). O desempenho esportivo foi prejudicado pela BDE-P. **CONCLUSÃO:** Contrariamente à hipótese original, a maior ingestão de proteína em uma dieta de BDE não protegeu contra danos ao metabolismo ósseo e desempenho esportivo. A resposta mais negativa, ainda que não estatisticamente significativa em termos de biomarcadores ósseos, foi observada na condição BDE-P. Evidências emergentes sugerem que este efeito adverso pode estar relacionado à baixa disponibilidade de carboidratos. Mais pesquisas são necessárias para explorar essa hipótese.

Palavras-chaves: Deficiência energética relativa no esporte. Ingestão de proteína. Necessidade energética. Metabolismo energético. Saúde óssea.

ABSTRACT

Pinto RS. The effect of low energy availability, with varying protein levels, on bone metabolism and exercise response in young and healthy adults [thesis]. São Paulo:, “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2024.

Evidence suggests that low energy availability (LEA) can harm bone metabolism, reducing bone formation rates and, in severe cases, increasing bone resorption. While higher protein intake during LEA may mitigate these effects, evidence supporting this strategy is limited. **OBJECTIVE:** To investigate the effect of brief exposure to diets with low energy availability, but with varying protein contents, on the bone metabolic response to exercise, as well as the effects of these same diets on substrate use and sports performance. **METHODS:** Nine young, healthy, physically active women and ten men participated in the study. The study design included five experimental sessions. During the first session, a VO₂ max test was performed to determine the intensity of subsequent experimental test sessions. In the second session, body composition was assessed and participants were familiarized to the exercise protocol (45 minutes of cycling at 65% VO₂ max, with a Wingate test at the end). The three experimental test sessions were conducted in random order, whereby participants were subjected to three dietary conditions: energy balance (BE: 45 kcal/kg LBM/day), BDE (15 kcal/kg LBM/day) with all macronutrients reduced in a proportional manner, and a low energy availability test with similar protein intake to that provided in EB (LEA-P). Each experimental condition lasted five days, that is, on day 1, the participants arrived, fasted, at the laboratory to provide a blood sample, and to undertake RMR assessment. They then received a standardized breakfast, completed the exercise protocol and had their blood collected before, during and after the test and 1 and 2 hours after the test. They continued with the provided diet for the next four days and returned on day 5 to repeat the same test procedures as on day 1. Blood samples were used to evaluate biomarkers of bone formation (P1NP) and resorption (CTX-1) and respiratory gas analysis was used to assess substrate metabolism at rest and during exercise. Physical performance was assessed using a wingate test. **RESULTS:** Visual inspection of results indicated a trend towards increased CTX-1, and reduced P1NP following LEA-P, compared to LEA and EB, although area under the curve analysis did not indicate a significant difference between the conditions ($p > 0.05$). Both BDE and BDE-P favored increased fat ($p=0,0025$), and reduced CHO ($p=0,0025$), oxidation at rest when compared to EB, but no difference in substrate use during exercise. Physical performance, assessed by total work done during a wingate test was lower in the LEA-

P condition, compared to LEA or EB ($p=0,04$). **CONCLUSION:** Contrary to our hypothesis, higher protein intake during low energy availability (LEA) did not protect against negative changes in bone metabolism and sports performance. Visual inspection showed a worsened bone metabolic profile and poorer exercise performance in the LEA-P trial compared to EB. These findings suggest that low carbohydrate intake, rather than LEA itself, may have driven these changes, though further research is needed to confirm this.

Keywords: Relative energy deficiency in sport. Protein intake. Energy requirement. Energy metabolism. Bone health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ilustração de como a baixa disponibilidade de energia resulta em realocação de forma competitiva a energia disponível entre vários processos biológicos.	22
Figura 2: Fatores associados ao ciclismo de estrada de elite, que podem impactar o osso.	26
Figura 3: Caminhos através dos quais as proteínas podem impactar os ossos	30
Figura 4: Visão Geral do Projeto Experimental.....	43
Figura 5: Fluxo de recrutamento das voluntárias.....	51
Figura 6. Variação média dos biomarcadores ósseos em diferentes momentos e condições de dieta em resposta ao exercício.....	56
Figura 7. Impacto BDE e BDE nas respostas previstas dos biomarcadores ósseos (CTX-1 e P1NP) em condições pré e pós-exercício	57
Figura 8. Taxa de percepção de esforço durante o teste de exercício.....	61
Figura 9. Gráfico de barras mostrando as médias e barras de erro representando os desvios padrão de potência média e trabalho total realizado.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Exemplo de cardápio de uma participante aplicado à cada condições de dieta	45
Tabela 2: Características dos participantes	52
Tabela 3: Média da dieta habitual e intervenção nutricional de mulheres.....	53
Tabela 4: Média da dieta habitual e intervenção nutricional de homens.	54
Tabela 5: Mudança da composição corporal de acordo com a intervenção nutricional	57
Tabela 6. Resultados da TMR mensurada e substratos energéticos	58
Tabela 7. Média de gasto energético, utilização de carboidratos e gorduras durante o exercício de acordo com a intervenção nutricional.....	59
Tabela 8. Dados do teste de Wingate de acordo com as intervenções nutricionais .	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDE	Baixa Disponibilidade Energética
BE	Balanço Energético
CTX-1	Telopectídeo C-terminal do Colágeno Tipo 1
DEXA	Absorciometria bifotónica de raio X
HCLF	High Carbohydrate Low Fat
ISAK	International Society for the Advancement of Kinanthropometry
LCHF	Low Carb High Fat
LH	Hormônio Luteinizante
MLG	Massa Livre de Gordura
mTOR	Alvo da Rapamicina em Mamíferos
P1NP	Propeptídeo Amino-terminal do Procolágeno Tipo 1
RED-S	Relative Energy Deficiency in Sports
TMR	Taxa Metabólica de Repouso
VET	Valor Energético Total
VO ₂	Consumo de Oxigênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Disponibilidade energética	19
2.1.1 Consequências de baixa disponibilidade energética	20
2.2 Modelos de BDE na saúde e desempenho esportivo: Tríade da mulher atleta e REDs	23
2.3 Influência da disponibilidade energética no metabolismo ósseo de praticantes	25
2.4 O potencial da proteína para atenuar os efeitos da BDE no metabolismo ósseo	28
2.5 Bioenergética do exercício e o efeito de BDE	31
2.5.1 Papel dos macronutrientes como substratos energéticos no exercício físico	33
2.5.2 Como as dietas podem influenciar no metabolismo energético durante o exercício	34
2.5.3 Como a BDE pode afetar o uso de substratos.....	36
2.6 Como a alteração da disponibilidade energética pode afetar o desempenho	36
3. OBJETIVO	39
4. HIPÓTESE	40
5. MÉTODOS	41
5.1 Participantes	43
5.2 Análise nutricional	44
5.3 Dieta experimental.....	44
5.4 Teste de capacidade aeróbica	47
5.5 Teste ergométrico.....	47
5.6 Wingate	47
5.7 Coleta de sangue e análise	48
5.8 Taxa metabólica de repouso (TMR):	48
5.9 Análise estatística.....	49
6. RESULTADOS	50
6.1 Participantes.....	50
6.2 Intervenção Nutricional.....	51
6.3 Biomarcadores do metabolismo ósseo	53
6.4 Composição corporal.....	56
6.5 Metabolismo energético	57
6.5.1 Metabolismo energético em repouso	57

6.5.2 Metabolismo energético durante o exercício	58
6.6 Desempenho esportivo.....	59
7. DISCUSSÃO.....	62
7.1 Resposta dos biomarcadores do metabolismo ósseo ao exercício em condição de BDE.....	62
7.2 Resposta do metabolismo energético ao exercício em condição de BDE	64
7.3 Efeito da BDE no desempenho Wingate	66
7.4 Limitações	67
8. CONCLUSÃO.....	69
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

1. INTRODUÇÃO

O exercício físico exerce vários sinais que podem impactar o osso, a maioria dos quais são osteogênicos, mas outros são potencialmente osteolíticos e essa influência do exercício no osso dependerá de qual desses sinais predomina (DOLAN E et al., 2022). O tecido ósseo responde ao estresse mecânico, sendo que atividades que impõem elevadas cargas gravitacionais ou musculares geralmente proporcionam benefícios significativos à saúde e à resistência óssea (KOHRT; BARRY; SCHWARTZ, 2009). Por isso, o exercício físico é comumente indicado para pessoas com risco de baixa densidade mineral óssea (DMO) ou alto risco de fratura (BECK et al., 2017; KOHRT et al., 2004). Apesar disso, existem situações de altos níveis ou volumes de treinamento que podem prejudicar a saúde óssea. Por exemplo, atletas que competem em esportes como ciclismo, corrida de *endurance*, ou corrida de cavalo são considerados com risco elevado de lesões ósseas (CAMPION et al., 2010; MOJOCK et al., 2015). É necessário realizar mais investigações para entender melhor os fatores subjacentes que podem levar a prejuízos na saúde óssea. Compreender esses mecanismos é crucial para desenvolver estratégias eficazes que protejam a integridade óssea dos atletas.

Quando consideramos a resposta metabólica óssea ao exercício, é essencial considerar o ambiente nutricional em que essa resposta ocorreu. Os ossos respondem agudamente à ingestão de nutrientes (BABRAJ et al., 2005; CLOWES et al., 2002; DOLAN et al., 2024), ou seja, sofre influência da disponibilidade de energia, juntamente com a ingestão de proteínas, carboidratos, cálcio e vitamina D, e outros micronutrientes que são capazes de modelar a resposta metabólica óssea ao exercício. Portanto, o ambiente nutricional pode ser um dos fatores que determinam como o osso responde ao exercício (DOLAN et al., 2024). Dois fatores que são muito relevantes nesse contexto, e que serão investigados no estudo atual, são a disponibilidade energética e a ingestão proteica.

A disponibilidade de energia (DE) refere-se à quantidade de energia disponível para processos fisiológicos após o atendimento das demandas de treinamento (LOUCKS; KIENS; WRIGHT, 2011). A baixa disponibilidade de energia (BDE) é um problema comum para muitos atletas, conforme conceituado pelo modelo *Relative Energy Deficiency in Sport* (REDs), com atletas que participam de esportes que

ênfatazam a magreza com risco particularmente alto. O conceito de REDs refere-se à condição de energia insuficiente para atender todas as demandas fisiológicas além dos requisitos de treino, exercendo efeitos negativos na saúde e desempenho no esporte tanto em mulheres quanto em homens (MOUNTJOY et al., 2023).

O impacto da BDE no osso tem sido extensivamente investigado, e a insuficiente DE (geralmente definida como $< 30\text{kcal/kg}$ de massa livre de gordura (MLG) por dia) afeta negativamente uma variedade de parâmetros, incluindo metabolismo ósseo, massa e microarquitetura óssea, como resumido em uma revisão recente (PAPAGEORGIU et al., 2018a). Evidências sugerem que existe uma redução nos marcadores de formação óssea (osteocalcina e propeptídeo carboxi-terminal do procolágeno tipo 1 – P1CP) frente à baixa disponibilidade energética, assim como um aumento da reabsorção óssea (telopeptídeo N-terminal do colágeno tipo 1 - NTX) em condições de restrições mais extremas, em mulheres jovens eumenorréicas sedentárias, porém saudáveis (IHLE; LOUCKS, 2004a; PAPAGEORGIU et al., 2017). A formação óssea reduzida em resposta à BDE provavelmente ocorre na tentativa de preservar energia para processos fisiológicos essenciais mais imediatos (MOUNTJOY et al., 2018), e também foi relatada, juntamente com baixa massa óssea e microarquitetura óssea comprometida, em estudos transversais de atletas com deficiência energética (DE SOUZA et al., 2008; TALBOTT; SHAPSES, 1998; ZANKER; SWAINE, 1998, 2000) e em populações clínicas caracterizadas por extrema deficiência de energia, como anorexia nervosa (BOLTON et al., 2005; MISRA et al., 2008). Por isso, a BDE deve ser evitada para proteger a saúde óssea. Mas atingir a adequada DE é desafiador para atletas com níveis muito altos de gasto de energia induzido pelo treinamento, enquanto outros são obrigados a reduzir a massa corporal para criar categorias de peso estipuladas pela competição. Por isso, é necessário investigar estratégias que podem proteger a saúde óssea em situação de BDE, mas atualmente, existe uma escassez de pesquisas nesse aspecto.

A manutenção de um nível adequado dos alimentos protéicos dentro de uma dieta deficiente em energia, representa estratégias potenciais para proteger os ossos. Os benefícios da proteína para a massa e função muscular têm sido extensamente investigados e os resultados são claros. A alta ingestão de proteína e de fontes de proteínas com alto teor de leucina, aumentam os benefícios do desempenho e do ganho de massa muscular em resposta ao treinamento. Especialmente em dietas

restritas, a alta ingestão de proteínas pode auxiliar no controle do peso, preservando a massa muscular (CARBONE; MCCLUNG; PASIAKOS, 2019; PHILLIPS; CHEVALIER; LEIDY, 2016). O músculo e o osso funcionam como uma unidade (E SCHOENAU, 2005). Por isso, qualquer estratégia que beneficie o músculo é provável de exercer efeito positivo no osso também. Além disso, existem várias outras vias pelas quais a proteína é anabólica para os ossos (DOLAN; SALE, 2019). O tecido ósseo compreende aproximadamente 50% de proteína, o que significa que é necessário ingerir proteína suficiente para apoiar a remodelação óssea. Isso é particularmente relevante para pessoas ativas, uma vez que o requisito de se adaptar ao treinamento e exercício pode aumentar a taxa de remodelação. Ainda, a ingestão de proteínas na dieta aumenta positivamente uma ampla gama de hormônios anabólicos e fatores de crescimento, como IGF-1 (THISSEN; KETELSLEGERS; UNDERWOOD, 1994), que são anabólicos para os ossos (KAWAI; ROSEN, 2012).

Considerando todas essas evidências, é possível que a ingestão adequada de proteína tenha a capacidade de bloquear ou atenuar os efeitos negativos da BDE no metabolismo ósseo. No entanto, até o momento, nenhum estudo controlado foi realizado para investigar a eficácia dessa estratégia, e o presente estudo foi concebido para avançar o conhecimento neste tópico.

Além disso, vários processos sugeridos como afetados pela BDE, como o desempenho esportivo e o metabolismo energético, ainda carecem de evidências robustas no contexto da REDs. Esses aspectos são de extrema importância para os atletas, principalmente àqueles que visam otimizar o desempenho esportivo. Portanto, há uma necessidade de realizar mais pesquisas nessa área para aprofundar a compreensão e desenvolver estratégias eficazes para essa população. Finalmente, explorar se existem diferenças de respostas entre gêneros é importante, para identificar se homens e mulheres podem reagir de maneira distinta às intervenções nutricionais e à BDE.

O objetivo principal deste estudo é avaliar como uma breve exposição de 4 dias a dietas com baixa disponibilidade energética, com teores variados de proteína, influencia o metabolismo ósseo em homens e mulheres jovens e saudáveis. Adicionalmente, o estudo visa analisar o impacto dessas dietas no metabolismo em

repouso, durante o exercício, e no desempenho esportivo em um teste de alta intensidade.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Disponibilidade energética

Disponibilidade energética (DE) é um termo utilizado para calcular a quantidade de energia disponível para processos fisiológicos depois atender as demandas energéticas de exercícios em indivíduos fisicamente ativos. É calculada com base na ingestão energética (IE) menos o gasto energético do exercício (EEE) e ajustado para a massa livre de gordura ($DE = \text{ingestão de energia} - \text{gasto energético do exercício} / \text{massa livre de gordura}$). O balanço energético é outro termo importante utilizado para quantificar a energia que entra no organismo em relação à energia total gasta, mas difere da DE no cálculo que se baseia no gasto energético total (GET) menos a ingestão de energia. O balanço energético é considerado um sistema de saída, comumente utilizado para investigar as consequências da ingestão inadequada de energia de um indivíduo, em relação à quantidade de energia que é gasta ao longo do dia, tanto nas atividades diárias quanto no exercício, enquanto a DE é considerada um sistema de entrada (LOUCKS; KIENS; WRIGHT, 2011). No entanto, o conceito de disponibilidade energética oferece vantagens quando comparado ao balanço energético, uma vez que este último não fornece informações se os sistemas estão funcionando em níveis adequados (LOUCKS; KIENS; WRIGHT, 2011; MELIN et al., 2015). O organismo pode reduzir o metabolismo basal na tentativa de restabelecer o balanço energético, suprimindo assim funções fisiológicas consideradas não imediatamente essenciais, com o intuito de proteger sistemas com uma necessidade mais imediata em insuficiência de energia prolongada (MELIN et al., 2015). Nessa condição, um balanço energético positivo é o resultado do excesso de calorias na dieta, em relação ao que é gasto, o que pode levar ao ganho de peso. Em contraste, um balanço energético negativo resulta de um déficit calórico e, como consequência, haverá perda de peso (PAPAGEORGIU et al., 2018a). Portanto, essas classificações de balanço energético indicam que o indivíduo pode estar em balanço energético, mas apresentar, ainda assim, baixa disponibilidade de energia.

2.1.1 Consequências da baixa disponibilidade energética

Quando a ingestão energética é insuficiente para suprir o gasto energético do exercício e, simultaneamente, apoiar todos os sistemas biológicos (um valor

comumente estimado por <30 kcal/kg de MLG), o indivíduo apresenta-se em baixa disponibilidade energética (BDE). Acredita-se que a BDE é responsável pelas consequências negativas na saúde e desempenho dos atletas, com consequências negativas em diversas funções do organismo (DE SOUZA et al., 2017; MOUNTJOY et al., 2023). Comumente atletas apresentam-se nessa condição e existem três principais razões para que isso aconteça: 1) Um gasto energético do exercício elevado; 2) restrição calórica; 3) a combinação entre o treino intenso e a restrição da alimentação (MOUNTJOY et al., 2014). A ingestão insuficiente de energia pode acontecer de forma voluntária ou involuntária. Muitos atletas estão em esportes em que há uma cobrança quanto ao padrão corporal e/ou peso para categorias de competição, resultando em uma restrição calórica voluntária. Outra condição comum é o alto volume de treinamento e consequente alto gasto calórico do exercício e dificuldade de ingestão das quantidades necessárias de calorias diárias, resultando assim, em uma restrição alimentar involuntária. Anorexia nervosa, problemas sérios de distúrbios alimentares, uso de técnicas para perder peso que levam à desidratação e instabilidade hemodinâmica, entre outras condições, são outras práticas destacadas na literatura que levam à BDE (BURKE et al., 2018; MOUNTJOY et al., 2023).

Um ponto crucial a ser destacado é a distinção entre BDE adaptável e problemática. Períodos breves e controlados de BDE, conhecidos como BDE adaptável, podem ser utilizados estrategicamente em benefício do atleta. Por exemplo, uma restrição calórica bem planejada pode ser útil para atingir a composição corporal desejada para competições ou para promover adaptações metabólicas que aumentam a eficiência energética (STELLINGWERFF; MORTON; BURKE, 2019). Em contextos específicos, como na gestão da composição corporal ou durante períodos intensos de treinamento ou competição, essa redução controlada na disponibilidade energética, quando combinada com estratégias nutricionais adequadas, pode melhorar o desempenho sem comprometer a saúde e o bem-estar a longo prazo (METTLER; MITCHELL; TIPTON, 2010; MOUNTJOY et al., 2023). Por outro lado, a BDE problemática ocorre quando a restrição energética é mais severa e prolongada, levando aos sinais e sintomas mais graves associados à síndrome de *Relative Energy Deficiency in Sports* (REDs). Este tipo de BDE afeta adversamente múltiplos sistemas corporais, principalmente os sistemas reprodutivo e ósseo, entre outros. A BDE problemática apresenta maior complexidade, com a duração, intensidade e frequência

da exposição à energia insuficiente influenciando de maneira variável diversos sistemas corporais, dependendo do contexto individual (MOUNTJOY et al., 2023). Isso representa um risco significativo para o equilíbrio fisiológico e a saúde do atleta, exigindo uma abordagem cuidadosa para sua identificação e manejo. O conceito de REDs será explorado com mais detalhes nas seções seguintes.

Em condições de BDE problemática, o corpo ativa mecanismos fisiológicos para reduzir a utilização de energia em funções não imediatamente essenciais, como reprodução e crescimento, realocando a energia disponível para processos biológicos vitais, assim como ilustrado na figura 1 (DE SOUZA et al., 2017; SHIRLEY et al., 2022). Diversos sistemas podem ser prejudicados, como o sistema reprodutivo em mulheres, onde a pulsatividade de LH e hormônios tireoidianos é reduzida, podendo levar à supressão da capacidade reprodutiva e à interrupção do ciclo menstrual (DE SOUZA et al., 2017; LOUCKS, 2007). A taxa metabólica de repouso (TMR) também pode ser afetada pela disponibilidade energética (MELIN et al., 2015; MOLE, 1990; WOODS et al., 2017), sendo um marcador importante da energia disponível em repouso. Alterações na TMR podem indicar que o corpo está ajustando seus mecanismos fisiológicos para preservar energia para funções essenciais.

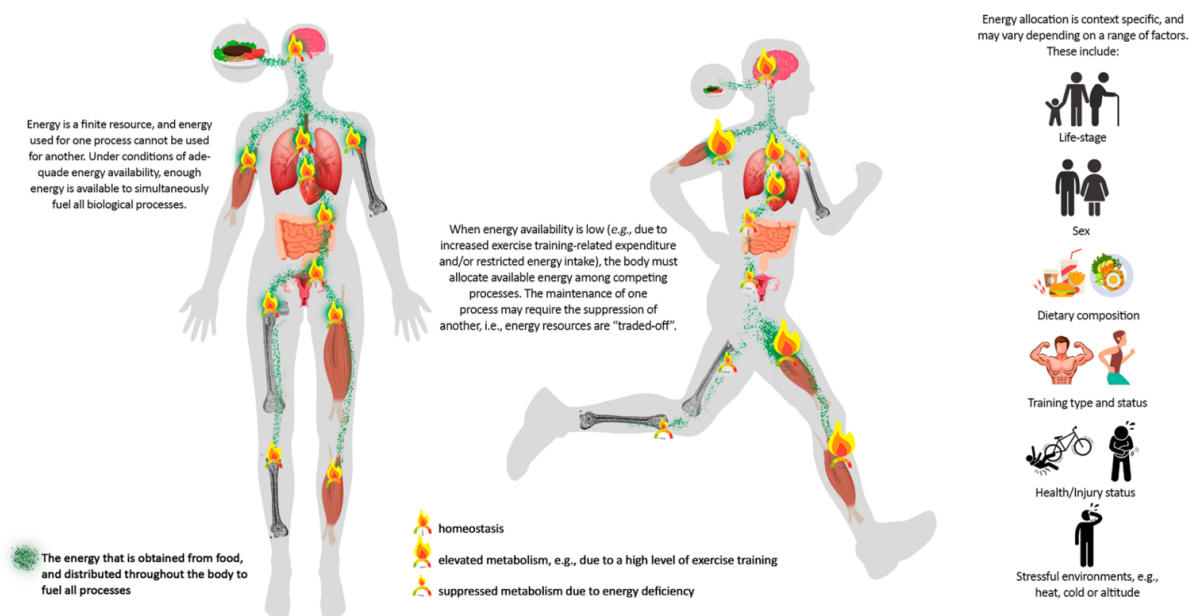


Figura 1: Ilustração de como a baixa disponibilidade de energia resulta em realocação de forma competitiva a energia disponível entre vários processos biológicos (SHIRLEY et al., 2022).

Em adultos saudáveis, uma disponibilidade energética considerada o limiar abaixo do qual os processos fisiológicos começam a suprimir é de 30 kcal/kg MLG/dia, valor este que também corresponde aproximadamente à TMR. Um valor de 45 kcal/kg MLG/dia é considerado o estado adequado para manter todos os processos fisiológicos, além de atender as atividades de vida diária (DE SOUZA et al., 2017). Embora não há uma recomendação precisa, algumas recomendações baseiam-se em >40 kcal/kg de MLG/dia para homens e >45 kcal/kg de MLG/dia para mulheres, como uma disponibilidade energética ótima, para manutenção do peso, garantindo energia adequada para todas as funções fisiológicas e durante períodos de lesões (MELIN et al., 2019). A recomendação difere entre gêneros devido a estudos clínicos que relataram em qual limiar de ingestão calórica as alterações metabólicas e endócrinas podem acontecer, mesmo em curto prazo (IHLE; LOUCKS, 2004b; KOEHLER et al., 2016; LOUCKS; THUMA, 2003). É sugerido que as mulheres são mais suscetíveis aos efeitos negativos da BDE, o que leva a recomendações energéticas geralmente mais elevadas para elas. Contudo, a maioria dos estudos sobre BDE tem foco em mulheres, resultando em uma lacuna de conhecimento robusto sobre as diferenças entre os gêneros quanto aos efeitos da BDE. A evidência atual ainda não é suficiente para confirmar se realmente há uma disparidade significativa entre homens e mulheres na resposta à BDE. Portanto, é essencial a realização de mais estudos que possam determinar a quantidade exata de energia necessária para manter todos os sistemas fisiológicos em funcionamento adequado, e para investigar se existe uma diferença substancial na necessidade energética entre os gêneros. Isso permitirá a formulação de recomendações energéticas mais precisas e individualizadas.

2.2 Modelos de BDE na saúde e desempenho esportivo: Tríade da mulher atleta e REDs

Atualmente, há dois modelos que são usados para considerar e investigar o efeito de BDE na saúde e desempenho dos atletas: tríade da mulher atleta e *Relative Energy Deficiency in Sports* (REDs). Ambos os modelos têm pontos em comum, mas também têm aspectos únicos e distintos. A revista *American College of Sports Medicine* (ACSM) descreveu pela primeira vez a tríade da mulher atleta em 1993, como uma síndrome de três condições inter-relacionadas que envolve baixa disponibilidade energética (com ou sem distúrbios alimentares), amenorréia e osteoporose, comumente observadas em mulheres fisicamente ativas. Nessa

definição, todos os três elementos da tríade deveriam estar presentes para diagnóstico da síndrome (K YEAGER et al., 1993). Em 2007, um novo comunicado do ACSM ressaltou a presença isolada ou em combinação de um dos elementos da tríade como suficiente para o diagnóstico, classificando ainda entre graus de gravidade leve à moderado (NATTIV et al., 2007). Ou seja, as atletas podem migrar em grau de complexidade dos elementos da síndrome, com início em fases leves, com supressão lútea, folicular, anovulação, até formas mais graves de oligomenorréia e amenorréia (LOUCKS, 2004; NATTIV et al., 2007). Existe uma variabilidade grande entre prevalência em diferentes esportes, e sabe-se que o risco de desenvolver a tríade da mulher atleta ou REDs é maior em esportes que enfatizam a magreza em comparação aos esportes em que o peso corporal não é muito relevante. Em uma revisão sistemática Gibbs et al. (2013) mostrou que cerca de 0 a 16% das mulheres atletas de diferentes esportes apresentaram todas as condições da tríade simultaneamente, de 3 a 27% apresentaram duas condições e cerca de 16 a 60% apresentaram apenas uma das três condições (GIBBS; WILLIAMS; DE SOUZA, 2013). No entanto, existe uma variabilidade grande entre prevalência em diferentes esportes, principalmente devido a dificuldade de definir BDE nos atletas.

O conceito de REDs veio para englobar os efeitos na saúde e desempenho no esporte tanto em mulheres quanto em homens e este modelo abriu um leque de oportunidade de novas investigações para analisar a influência da BDE nos diferentes processos fisiológicos. Como tal, o modelo do REDs é bem mais aberto e engloba muito mais conceitos do que o modelo da tríade (MOUNTJOY et al., 2014, 2018). Apesar disso, o modelo recebeu algumas críticas, porque alguns dos sistemas indicados como afetados pela REDs não têm base de evidências fortes. Além disso, a quantidade de estudos com os desfechos na saúde e performance de homens atletas é menor em relação às mulheres (BURKE et al., 2018). Contudo, estudos futuros com comparações dos efeitos de BDE entre homens e mulheres são necessários, assim como mais pesquisas são necessárias para confirmar as consequências da BDE para vários sistemas relacionados à saúde e desempenho esportivo.

A conduta nutricional e o ajuste de treinamento são as principais formas de tratar ou prevenir REDs e as consequências no metabolismo (KUIKMAN et al., 2021). Partindo da definição de disponibilidade energética, o tratamento dessa condição se

daria com o aumento da ingestão alimentar e/ou com a redução do gasto energético de treinamento (MOUNTJOY et al., 2018). Entretanto, este último apresenta um desafio importante no contexto do atleta, pois pode afetar negativamente o volume e o programa de treinamento (KUIKMAN et al., 2021). Isso reforça, portanto, a importância da conduta nutricional no manejo da BDE e REDs. Voltando ao tema principal deste relatório, evidências recentes têm mostrado não apenas o papel da adequação da disponibilidade energética no manejo da resposta óssea ao REDs (SALE; ELLIOTT-SALE, 2019), mas também o potencial de outras estratégias nutricionais, como a disponibilidade de carboidratos (HAMMOND et al., 2019; HEIKURA et al., 2020), proteínas (TOWNSEND et al., 2017) e micronutrientes (SALE; ELLIOTT-SALE, 2019). Esses conceitos serão mais explorados nas próximas seções, mas vale destacar que atualmente existem poucas evidências científicas para confirmar se essas estratégias funcionam ou não, representando uma lacuna importante na literatura. O presente estudo vai contribuir com informações importantes sobre o efeito de uma dessas estratégias potenciais, com base no potencial de proteína para atenuar os efeitos negativos de BDE, como elaborado na seção 2.4 desta revisão.

Embora conceitualmente simples, a recomendação de aumentar a ingestão energética pode ser de difícil adesão em indivíduos em treinamento e atletas. Para pessoas com transtornos alimentares ou com objetivo de controle do peso para competição, atender às recomendações nutricionais torna-se ainda mais complexo, porque existem fatores além de aspectos práticos relacionados à alimentação para ponderar. Vale considerar ainda, que o exercício agudo de moderada a alta intensidade pode ter importante efeito anorexígeno, devido às flutuações nos hormônios reguladores do apetite (grelina, peptídeo YY (PYY) e glucagon-like peptídeo-1 (GLP-1)), dificultando assim, o aumento da ingestão energética, sobretudo nos momentos próximos ao treinamento (DEIGHTON; STENSEL, 2014; SCHUBERT et al., 2014) Atletas que treinam muitas horas por dia, podem ter oportunidades reduzidas de tempo para alimentação. Ainda, a depender da época de treinamento, o gasto energético gerado pelo mesmo, pode ser tão excessivo, que a sua compensação pelo aumento do aporte energético se torna desafiadora. Por exemplo, considerando atletas ciclistas, que podem alcançar um gasto energético durante o treinamento de cerca de 3.500 kcal em uma preparação pré-temporada (VOGT et al.,

2005). Como nesse mesmo exemplo, em uma visão prática, se considerarmos as demandas do treinamento (3500 kcal) mais a ingestão calórica de 40 kcal/kgMLG/dia, o indivíduo de cerca de 60kg de MLG precisaria ingerir em torno de 5.900 calorias totais por dia, o que se torna um desafio na prática. Dessa forma, as estratégias nutricionais que visam minimizar os danos à saúde e desempenho são importantes, ainda que de alta complexidade na aplicação.

2.3 Influência da disponibilidade energética no metabolismo ósseo de praticantes

A modelagem óssea é o nome dado ao processo de formação e reabsorção óssea. Esse processo é controlado por células específicas - a formação óssea é feita por osteoblastos, já a reabsorção óssea por osteoclastos. A remodelação óssea é outro termo importante na qual refere-se ao mecanismo de substituição da matriz óssea e reparação do osso ao longo do tempo, para manter a resistência do osso e a homeostase mineral. No processo de remodelação, osteoblastos e osteoclastos agem de forma acoplada (ALLEN; BURR, 2013; LANGDAHL; FERRARI; DEMPSTER, 2016). Sabe-se que alguns tipos de exercício físico são benéficos para o osso devido principalmente ao potencial osteogênico que as tensões mecânicas, alto impacto/carga que exercem, levando ao aumento de sinais mecânicos que promovem a diferenciação de células-tronco mesenquimais a favor da formação óssea e consequentemente da densidade óssea. Já exercícios de baixa carga e movimentos repetidos, por exemplo ciclismo, não são considerados osteogênicos (KOHRT et al., 2004; YUAN et al., 2016). Sabe-se que atletas homens e mulheres apresentam maior densidade mineral óssea (DMO) comparados com não-atletas (VUORI, 2001), principalmente quando submetidos a esportes com carga de força de alta intensidade e alto impacto (KOHRT et al., 2004). O ciclismo, por ser um exercício de baixo impacto com movimentos repetidos e pouca pressão aos ossos, pode ser de menor efeito na massa óssea. Na verdade, algumas evidências indicam que ciclistas de estrada elite podem ter menos massa óssea em comparação aos controles saudáveis (CAMPION et al., 2010; MOJOCK et al., 2015), demonstrando que existem situações de altos níveis ou volumes de treinamento que podem prejudicar a saúde óssea. Uma descrição dos fatores que podem contribuir para isso, está descrita na Figura 2.

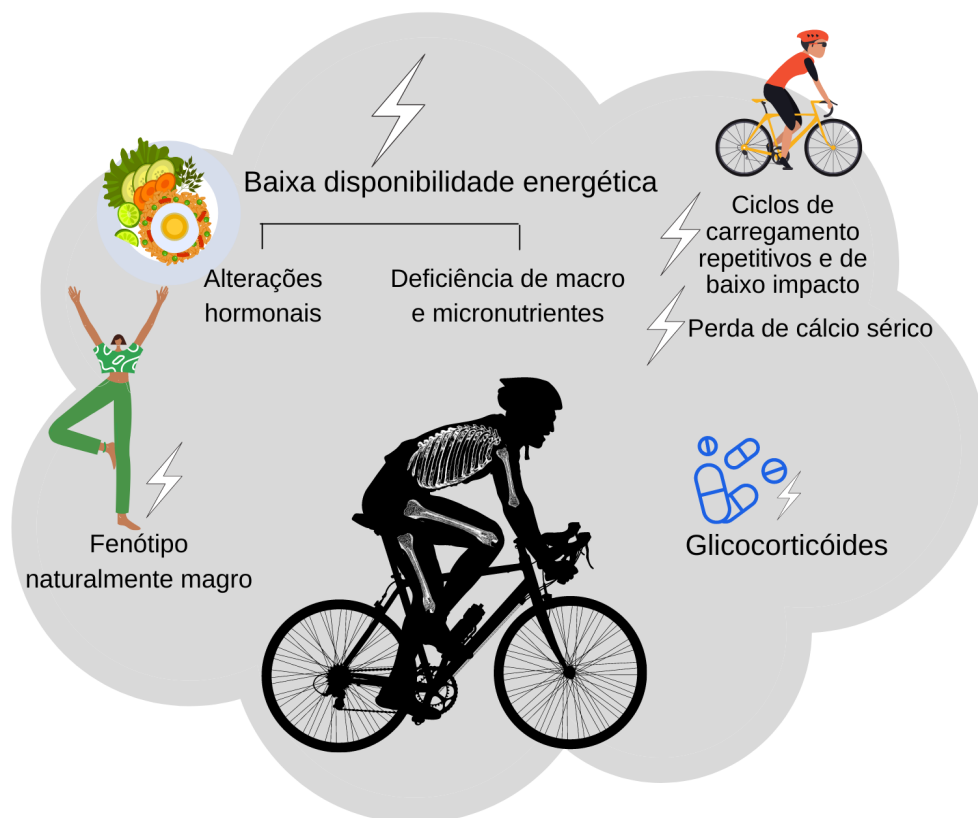


Figura 2: Fatores associados ao ciclismo de estrada de elite, que podem impactar o osso.

Uma ampla gama de evidências existe para indicar que a saúde óssea é frequentemente prejudicada em atletas que sofrem de REDs, incluindo prejuízos na massa, arquitetura e força óssea, variando conforme a gravidade e duração da exposição à BDE (DOLAN E et al., 2022). Diante disso, atletas com BDE problemática apresentam risco elevado de sofrer fraturas por estresse – lesões que têm consequências muito graves para a carreira de atletas, devido ao longo tempo necessário para a recuperação (BARRACK et al., 2014; HEIKURA et al., 2018; ROCHE et al., 2023). Apesar de escassos, estudos já mostraram que até mesmo uma breve exposição (3 – 5 dias) a um período de BDE pode influenciar no metabolismo ósseo de pessoas sedentárias e fisicamente ativas (IHLE; LOUCKS, 2004a; PAPAGEORGIU et al., 2018a). Ihle e Loucks (2004), investigaram em mulheres sedentárias e eumenorréicas o papel de diferentes categorias de disponibilidade energética reduzida (30, 20 e 10 kcal/Kg de MLG) por 5 dias, induzido por dieta e exercício (gasto energético do exercício= 15 kcal/kgMLG/dia) em comparação com dieta balanceada (45 kcal/Kg de MLG) nos marcadores metabólicos ósseos. O exercício foi aplicado em esteira ergométrica motorizada e as participantes tiveram

que caminhar de 30 a 40 minutos a 70% do VO₂ máximo na velocidade de inclinação da esteira e intercalando com descansos de 10 minutos. Foi visto que os marcadores de formação óssea (propeptídeo carboxil-terminal do procolágeno tipo 1 (P1CP) e osteocalcina total) foram reduzidos em 12 e 11% respectivamente em condição de 30 kcal/Kg de MLG, enquanto o marcador de reabsorção óssea (telopectídeo reticulado do terminal amino urinário de colágeno tipo I (NTX)) aumentou 34% na condição mais baixa DE (10 kcal/Kg de MLG) (IHLE; LOUCKS, 2004a). No entanto, esses dados se basearam em mulheres sedentárias e alguns dos marcadores metabólicos ósseos utilizados para avaliar a formação e reabsorção óssea não são os recomendados pela *International Osteoporosis Foundation*, devido principalmente à variabilidade e menor especificidade para o osso em amostras de urina (VASIKARAN et al., 2011). Para investigar se o mesmo efeito da DE influencia na saúde óssea de atletas femininas, e usando os biomarcadores de referência recomendados, Papageorgiou et al. (2018) aplicou a BDE de 15 kcal/kg de MLG/dia (por dieta e exercício) por 5 dias em mulheres fisicamente ativas e observou o aumento do marcador de reabsorção óssea (telopectídeo reticulado de terminal β-carboxil superior do tipo I colágeno (β-CTX)) e redução do marcador de formação óssea (propeptídeo aminoterminal significativamente inferior de procolágeno tipo 1 (P1NP)), em comparação à DE equilibrada (45 kcal/kg de MLG/dia). Esses achados mostram, um efeito agudo (5 dias) da disponibilidade energética no metabolismo ósseo em condição de exercício físico, e que os desfechos negativos da DE no osso não se baseiam somente em mulheres sedentárias. Vale destacar, que no presente projeto, a baixa disponibilidade energética será alcançada somente com a dieta, porque já foi mostrado em estudo que a BDE induzida pela restrição energética tem maior efeito sobre os marcadores do metabolismo ósseo em comparação à BDE induzida pela combinação de exercício e restrição energética (PAPAGEORGIU et al., 2018a).

São escassos os estudos que analisaram a disponibilidade energética na saúde óssea de homens (NATTIV et al., 2021). Para investigar essa condição, Papageorgiou et al. (2017) conduziu um outro estudo com homens fisicamente ativos com o mesmo desenho descrito acima. No entanto, não foram observadas alterações significativas nos biomarcadores de formação e reabsorção óssea (P1NP ou β-CTX), somente alterações em alguns voluntários (PAPAGEORGIU et al., 2017). Essas evidências sugerem que os efeitos da BDE são mais notórios em mulheres,

principalmente quanto à saúde óssea. Apesar disso, é importante destacar que este estudo conduziu análises separadas para o grupo dos homens e o grupo das mulheres, mas não considerou a diferença entre ambos os gêneros. Portanto, é importante que mais investigações sejam feitas para confirmar se essa diferença potencial realmente existe.

2.4 O potencial da proteína para atenuar os efeitos da BDE no metabolismo ósseo

A proteína é essencial para formar a massa óssea, já que cerca de 50% da massa óssea é constituída de proteína. Por isso, a ingestão adequada de proteína na dieta parece essencial para o desenvolvimento e manutenção do osso em adultos (WEAVER et al., 2016). Porém, essa perspectiva nem sempre foi reconhecida, e as primeiras investigações sobre a influência da proteína na saúde óssea se basearam na teoria de que seria prejudicial à massa óssea. Anteriormente, estudos sugeriram que o maior consumo de proteína resultava na maior excreção de cálcio na urina (KERSTETTER; ALLEN, 1994). Foi proposto que a eliminação de cálcio pela urina se dava pelo aumento de metabólitos ácidos no organismo resultante da ingestão aumentada de proteína e que impossibilitava então, o adequado tamponamento pelo aparelho respiratório. A teoria se baseava na utilização de cálcio retirados dos ossos como mecanismo tamponante (FARIBA et al., 2003; KERSTETTER JANE et al., 2005; SHAMS-WHITE et al., 2017), por isso a ingestão elevada de proteína foi vista como prejudicial ao osso. Para investigar mais essa relação proteína e prejuízo da saúde óssea por perda de cálcio, Kerstetter et al. (2005) realizou uma intervenção de curto prazo com isótopos de cálcio e foi observado que o aumento de cálcio excretado pela urina está relacionado ao aumento da absorção intestinal de cálcio resultante do maior consumo de proteína, e que o aumento de cálcio da urina é, então, advindo da melhor eficiência de absorção sem afetar o catabolismo esquelético à curto prazo (KERSTETTER JANE et al., 2005). Assim, não há evidências de que a carga ácida derivada da dieta é deletéria para a saúde óssea (RIZZOLI et al., 2018). Ao contrário, a perspectiva atual é que uma ingestão adequada de proteína é essencial para manter o metabolismo e a saúde óssea.

Partindo da teoria que a ingestão de proteína é benéfica para a massa e função muscular (PHILLIPS; CHEVALIER; LEIDY, 2016), sugere-se que este nutriente na

dieta é importante para o osso também, visto que o músculo e o osso funcionam como uma unidade (E SCHOENAU, 2005). Existem várias outras vias pelas quais a proteína é anabólica para os ossos (ver figura 3 o resumo desses mecanismos; DOLAN; SALE, 2019). Isso ainda é particularmente relevante para o exercício, uma vez que o exercício aumenta a remodelação óssea (DOLAN et al., 2020). Além disso, a ingestão de proteínas na dieta aumenta positivamente uma ampla gama de hormônios anabólicos e fatores de crescimento, como IGF-1 (THISSEN; KETELSLEGERS; UNDERWOOD, 1994), que são anabólicos para os ossos (KAWAI; ROSEN, 2012). Recomenda-se para algumas populações, incluindo atletas (PHILLIPS; CHEVALIER; LEIDY, 2016) e idosos (TRAYLOR; GORISSEN; PHILLIPS, 2018) que consumam mais proteína (entre 1,2 e 1,6 g/kg de peso corporal/dia) do que as quantidades diárias recomendadas (atualmente 0,8 g/kg de peso corporal/dia) (JÄGER et al., 2017; RIZZOLI et al., 2018)

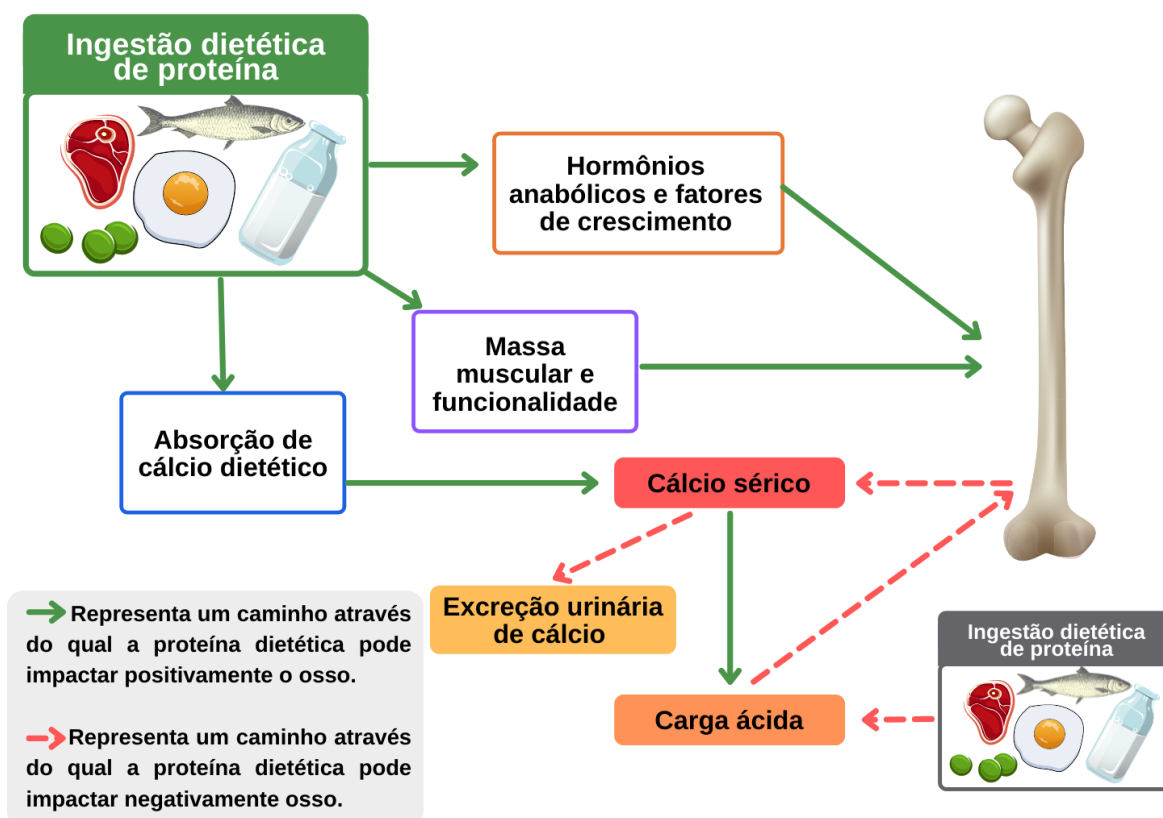


Figura 3: Caminhos através dos quais as proteínas podem impactar os ossos (DOLAN; SALE, 2019).

De acordo com o que foi abordado nas seções anteriores, é comum em atletas a ingestão de calorias inferior do que é recomendado (restrição calórica) para manter

as funções fisiológicas adequadas e para o desempenho esportivo. Conforme abordado com as evidências descritas acima (IHLE; LOUCKS, 2004a; PAPAGEORGIOU et al., 2018a), evidências também indicam que, em humanos, a exposição a uma restrição calórica em curto prazo, pode influenciar negativamente a síntese proteica muscular (ARETA et al., 2014; CARBONE et al., 2014; MURPHY et al., 2015), coordenados por diversas vias de sinalização, incluindo a proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) (HODSON et al., 2019). A composição de proteína na dieta já se mostrou eficaz em atenuar a redução da síntese proteica muscular em condições de BDE (ARETA et al., 2014; ATHERTON et al., 2010; HELMS et al., 2014; KIM et al., 2016). As evidências descritas então, indicam que a ingestão de proteína, principalmente associada ao exercício (CARBONE; MCCLUNG; PASIAKOS, 2019), é uma estratégia viável para proteger o músculo esquelético em déficit energético (JOSSE et al., 2011; LONGLAND et al., 2016). Nesse sentido, ao observar que a ingestão de proteína é benéfica para o músculo, devido principalmente aos estímulos de fatores anabólicos e sinais mecano-transdutores, também pode ser positivo para a saúde óssea, mas essa teoria precisa ser investigada e apoiada com dados empíricos.

Ao considerar todas essas evidências, parece possível que a ingestão protegida de proteína tem capacidade de atenuar os efeitos negativos de BDE no metabolismo ósseo. Apesar disso, atualmente, nenhum estudo controlado foi feito para investigar a eficácia dessa estratégia e o estudo atual foi desenhado para avançar o conhecimento neste tópico. O presente estudo responde três perguntas principais, que são A) confirmar que um breve período de BDE vai reduzir a taxa de formação óssea, B) investigar como a BDE vai influenciar a resposta metabólica óssea à uma sessão aguda de exercício e C) explorar o potencial da ingestão protegida proteica para influenciar nesses fatores.

2.5 Bioenergética do exercício e o efeito de BDE

A contração muscular é essencial para qualquer atividade física, e sua ocorrência depende da energia fornecida pela molécula de trifosfato de adenosina (ATP). Nos filamentos do músculo esquelético, a proteína motora miosina, que contém a enzima ATPase, hidrolisa o ATP em difosfato de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico (Pi). Este processo permite a ligação da miosina à actina, causando uma mudança conformacional na miosina e gerando a tensão necessária para o

movimento das pontes cruzadas, resultando no encurtamento dos filamentos musculares e, conseqüentemente, na contração muscular (COMINETTI; COZZOLINO, 2020; LEHNINGER; NELSON; COX, 2014; POWERS; HOWLEY, 2017).

Dado que o corpo possui uma capacidade limitada de armazenar ATP, a regeneração contínua dessa molécula é necessária. A síntese de ATP ocorre através de três sistemas energéticos principais: ATP-CP, glicolítico e o metabolismo aeróbico, que utiliza a oxidação de carboidratos, lipídeos e proteínas provenientes da alimentação. Após a digestão e absorção dos nutrientes, as ligações covalentes dos alimentos são oxidadas, liberando energia que é utilizada para a produção de ATP (COMINETTI, COZZOLINO, 2020). Durante o exercício, a demanda por ATP aumenta conforme a intensidade do esforço, utilizando glicose, ácidos graxos e alguns aminoácidos para a produção de acetil-CoA, que é processado no ciclo de Krebs e na cadeia respiratória, resultando na produção de ATP (POWERS; HOWLEY, 2017).

A glicose pode ser metabolizada de forma aeróbia ou anaeróbia. Na glicólise anaeróbia, a glicose é convertida em piruvato, uma reação não dependente de oxigênio, que é então transformado em lactato e pode ser transportado para o fígado e ser utilizado na gliconeogênese ou tamponado na corrente sanguínea. No caso da presença de oxigênio, o piruvato é convertido em acetil-CoA e entra no ciclo de Krebs, culminando na fosforilação oxidativa para a produção de ATP (LEHNINGER; NELSON; COX, 2014).

Os lipídios também servem como substratos energéticos, sendo os triglicerídeos quebrados em ácidos graxos e glicerol. O glicerol é transportado para o fígado, onde pode ser usado na gliconeogênese ou na via glicolítica, enquanto os ácidos graxos são transformados em acetil-CoA através da beta-oxidação, sendo posteriormente utilizados na cadeia respiratória para a produção de ATP (COMINETTI; COZZOLINO, 2020; LEHNINGER; NELSON; COX, 2014).

Em situações de baixa disponibilidade de carboidratos e lipídios, alguns aminoácidos podem ser metabolizados para a produção de energia, convertendo-se em glicose, lipídios ou participando diretamente no ciclo de Krebs. Aminoácidos como leucina e lisina são cetogênicos, sendo degradados para acetil-CoA ou acetoacetyl-

CoA, gerando corpos cetônicos. Outros aminoácidos, como alanina e asparagina, são glicogênicos, degradados em intermediários do ciclo de Krebs ou piruvato, que podem ser convertidos em fosfoenolpiruvato e, subsequentemente, em glicose. Alguns aminoácidos, como tirosina e isoleucina, são tanto cetogênicos quanto glicogênicos (LEHNINGER; NELSON; COX, 2014).

Durante o exercício, a quebra de ATP em ADP nos elementos contráteis do músculo libera a energia necessária para as contrações musculares. Dependendo da duração e intensidade do exercício, diferentes vias de ressíntese de ATP são ativadas simultaneamente (POWERS; HOWLEY, 2017). Inicialmente, a síntese de ATP ocorre através de fontes anaeróbias, como o sistema ATP-CP e o sistema glicolítico, utilizando glicogênio muscular e hepático. Em exercícios de longa duração, a produção de ATP torna-se predominantemente aeróbia, utilizando carboidratos e gorduras como fontes principais (GASTIN, 2001).

Existe uma correlação inversa entre a rapidez com que os sistemas energéticos podem fornecer energia e a quantidade de ATP que podem produzir. O sistema ATP-CP é muito rápido, mas também pode fornecer uma quantidade limitada de ATP, por isso, serve apenas para exercícios muito curtos, mas de alta intensidade. Por outro lado, o sistema aeróbio fornece bastante energia, mas é mais lento na regeneração do ATP, sendo mais adequado para exercícios de maior duração, mas de menor intensidade (KIM; LEE, 2022). O sistema aeróbio, que ocorre na mitocôndria, é a principal via de produção de energia em exercícios prolongados, sendo altamente eficiente na produção de ATP, com a degradação total da glicose gerando de 36 a 38 ATPs e cerca de 106 moléculas de ATP pela degradação dos ácidos graxos (HARGREAVES; SPRIET, 2021; POWERS; HOWLEY, 2017). Esses sistemas energéticos atuam simultaneamente, embora a predominância de um deles dependa da intensidade e duração do exercício, das reservas energéticas disponíveis e do tipo de fibras musculares envolvidas (POWERS, HOWLEY, 2017).

2.5.1 Papel dos macronutrientes como substratos energéticos no exercício físico

Como abordado anteriormente, os substratos carboidratos e lipídeos são oxidados tanto em repouso, quanto em exercícios de maior intensidade e duração,

mas a demanda durante o exercício pode alterar a proporção no qual cada substrato é utilizado. Vale considerar que outros fatores também estão envolvidos nessa predominância de substratos, como fatores nutricionais, disponibilidade energética, tipo de treinamento habituado, entre outros (NOAKES et al., 2023).

Durante exercícios de alta intensidade, a oxidação de gordura alcança um limite, e os carboidratos tornam-se os principais substratos energéticos. A energia necessária é predominantemente fornecida pela glicose plasmática e pelo glicogênio muscular, uma vez que os ácidos graxos livres não conseguem ser oxidados em taxas suficientemente altas para atender à demanda energética. Essa mudança na utilização de substratos é amplamente documentada em estudos de metabolismo do exercício, que mostram que à medida que a intensidade aumenta, há uma transição da oxidação de lipídios para carboidratos (ACHTEN; JEUKENDRUP, 2003; PERIC; MEUCCI; NIKOLOVSKI, 2016). Portanto, dietas ricas em carboidratos no período que antecede o exercício podem melhorar o desempenho, maximizando o armazenamento de energia para o exercício.

Exercícios de intensidade moderada aumentam a glicogenólise e a glicólise muscular, aumentam o recrutamento de fibras de contração rápida e diminuem a captação mitocondrial de ácidos graxos. No entanto, fatores como treinamento de resistência, fornecimento de energia e prática de exercício anterior, podem influenciar a oxidação de substratos durante o exercício. Estima-se que a oxidação de gordura para a produção de energia ocorra predominantemente em potências de 60-65% do $VO_2\text{max}$, caindo à medida que o exercício alcança intensidades mais altas (ACHTEN; JEUKENDRUP, 2003).

2.5.2 Como as dietas podem influenciar no metabolismo energético durante o exercício

Uma dieta de BDE pode comprometer o metabolismo energético durante o exercício, principalmente pela menor disponibilidade de carboidratos, que são os principais substratos em atividades de alta intensidade (BURKE et al., 2017; IHLE; LOUCKS, 2004a). A ingestão insuficiente de carboidratos leva à rápida depleção dos estoques de glicogênio muscular, forçando o corpo a recorrer à oxidação de gorduras, um processo metabólico menos eficiente para sustentar a intensidade do exercício

(ACHTEN; JEUKENDRUP, 2003; STELLINGWERFF; MAUGHAN; BURKE, 2011). Além disso, a BDE pode desregular hormônios importantes, prejudicando a utilização de substratos energéticos e o desempenho atlético (ACKERMAN et al., 2019a; MELIN et al., 2015)). Estudos que investigam diretamente o impacto da BDE sobre a utilização de substratos energéticos durante o exercício são escassos. A maior parte da literatura se concentra na manipulação de macronutrientes em dietas isocalóricas, como as dietas pobres em carboidratos e ricas em gorduras (*Low Carb High Fat - LCHF*). Portanto, os efeitos da dieta LCHF são considerados relevantes, pois compartilham uma característica central com a BDE – a baixa disponibilidade de carboidratos – podendo gerar efeitos metabólicos semelhantes durante o exercício e pertinentes ao presente estudo.

Alguns estudos já indicaram mudanças no metabolismo energético resultante de uma dieta LCHF e/ou manipulação dos macronutrientes (BURKE et al., 2021; PRINS et al., 2019; VOLEK et al., 2016). Volek et al. (2016) comparou a taxa de oxidação de gordura de ultramaratonistas submetidos à uma dieta LCHF em comparação com outro grupo controle com dieta rica em carboidrato e pobre em gordura (HCLF). Neste estudo, foi observado taxas significativamente mais altas de oxidação de gordura durante o exercício diante da dieta LCHF. Os autores sugeriram que uma adaptação metabólica pode ter acontecido por uma dieta habitual em LCHF (VOLEK et al., 2016). Sugere-se que 5 dias de dieta LCHF é suficiente para aumentar a taxa de oxidação de gordura de 0,50 g/min para 1,40 g/min e o retorno a uma dieta habitual rica em carboidrato pode reverter a proporção de oxidação. Ou seja, adaptações agudas podem exercer influência na taxa de oxidação de gordura em exercícios de moderada e alta intensidade (BURKE et al., 2021). Sugere-se que as alterações nas concentrações sanguíneas de insulina devido à redução da ingestão de glicose, seja um fator importante nessa resposta, já que a insulina atua no controle da taxa de oxidação de glicose e gordura (NOAKES et al., 2023). Prins et al. (2019) analisou o efeito de dietas LCHF e HCLF em corredores recreativos, mas bem treinados por 6 semanas e pode observar mudanças de *crossover* de taxa de oxidação de carboidrato e gordura durante exercício progressivo até exaustão (teste de tempo de 1609m mais corrida intervalada). Na dieta HCLF mais de 50% da energia oxidada foi de carboidratos em todas as intensidades do exercício e a maior taxa de oxidação de gordura aconteceu em 60% do VO_{2max} , caindo progressivamente à medida que o

VO₂max aumentou, sem um *crossover*. Já na dieta LCHF, 50% ou mais da oxidação foi advinda da gordura até 90% do VO₂max, com um ponto de *crossover* em 85% do VO₂max, conseqüente predominância na oxidação de carboidrato (PRINS et al., 2019). Com isso, observa-se que mudanças agudas no padrão alimentar podem impactar no metabolismo de substratos energéticos.

2.5.3 Como a BDE pode afetar o uso de substratos

Embora se suponha que a deficiência de nutrientes importantes para o desempenho esportivo e para sustentar o metabolismo adequado possa gerar adaptações no metabolismo oxidativo, faltam dados específicos sobre a resposta à restrição de energia. Sugere-se que a BDE possa impactar o uso de substratos energéticos tanto durante o exercício quanto em repouso, como uma forma do organismo ajustar o metabolismo para conservar energia e manter funções essenciais (SHIRLEY et al., 2022), o que pode alterar conseqüentemente a forma como os substratos como carboidratos, gorduras e proteínas são utilizados.

Em primeiro lugar, a BDE tende a reduzir a utilização de carboidratos como fonte de energia, principalmente porque os estoques de glicogênio muscular e hepático podem estar reduzidos devido à ingestão inadequada de carboidratos (IHLE; LOUCKS, 2004a; STELLINGWERFF; MAUGHAN; BURKE, 2011). Como resultado, há uma maior dependência das gorduras como principal fonte de energia. Quando os estoques de glicogênio são baixos, o desempenho em atividades que requerem explosão ou esforço prolongado pode ser comprometido (BURKE et al., 2011; LODGE; WARD-RITACCO; MELANSON, 2023).

Como abordado na seção anterior, a baixa disponibilidade de carboidrato observada na dieta LCHF parece ser suficiente para gerar alterações significativas no uso de substratos energéticos. Esses resultados podem ser comparados com a baixa disponibilidade de carboidrato que ocorre em uma dieta de BDE. Embora sejam necessários mais estudos para avaliar se a BDE poderia aumentar a taxa de oxidação de gordura, sugere-se que a deficiência de disponibilidade de carboidratos durante o exercício faça com que o metabolismo utilize predominantemente gordura como fonte de energia em exercícios mais intensos.

2.6 Como a alteração da disponibilidade energética pode afetar o desempenho

O efeito da BDE no desempenho esportivo é um tópico de grande interesse no meio esportivo. No entanto, existem poucas evidências conclusivas sobre o impacto de REDs no desempenho físico, especialmente a longo prazo, visto que as evidências atuais podem ser conflitantes. De um lado, é possível que certos atletas consigam manter um desempenho de “elite” por anos, apesar de apresentarem indícios de BDE problemática, como a amenorréia persistente. Recentemente, foi sugerido que a manutenção da capacidade física pode ser uma prioridade elevada para a alocação de energia quando a disponibilidade energética está baixa (ARETA, 2023). Também, é importante considerar o ponto acima sobre a capacidade de períodos breves de BDE adaptável e planejada para promover adaptações positivas ao desempenho, como melhorar a eficiência metabólica ou reduzir a gordura corporal, melhorando assim a relação potência-massa. Além disso, investigar o efeito da BDE no desempenho físico é complexo devido a vários fatores, incluindo a severidade e duração da exposição, a composição e qualidade da dieta, e o aspecto específico do desempenho físico em questão.

Apesar dos efeitos da BDE no desempenho esportivo serem amplamente inexplorados, há indícios de que possa ter impactos diretos e indiretos significativos. Quando a exposição à BDE ocorre de maneira crônica, as consequências no desempenho podem ser mais severas, mesmo que de forma indireta. Isso pode levar à redução da massa e força muscular, afetando negativamente a resistência e a recuperação do atleta. Além disso, a massa e o metabolismo ósseo podem ser prejudicados, aumentando o risco de fraturas (MELIN et al., 2024; MOUNTJOY et al., 2023). Como abordado anteriormente, um dos fatores indiretos mais impactantes na BDE é a baixa disponibilidade de carboidratos (MELIN et al., 2024; STELLINGWERFF; COX, 2014) e sabe-se que dietas ricas em carboidratos são importantes para aumentar os estoques de glicogênio muscular e hepático, essenciais para a produção de energia e para retardar a fadiga em exercícios intensos e prolongados (LUIZ DA SILVA; DAL FARRA MIRANDA; LIBERALI, 2008). A BDE reduz a síntese de glicogênio muscular, comprometendo a produção de energia, força e resistência (MOUNTJOY et al., 2023; STELLINGWERFF; COX, 2014). Já os fatores diretos da BDE no desempenho esportivo referem-se às consequências imediatas e

mensuráveis que afetam diretamente a capacidade física do atleta. Portanto, sugere-se que a redução da força, resistência, desempenho em testes de agilidade, produção de potência e exaustão são processos que podem ser afetados pela BDE, dependendo do tempo de exposição (MELIN et al., 2024).

Contudo, sugere-se que a BDE possa impactar negativamente o desempenho esportivo devido à baixa disponibilidade de nutrientes importantes, resultando na baixa capacidade de estocar glicogênio e influenciar no processo de utilização de energia (IHALAINEN et al., 2024; MOUNTJOY et al., 2018, 2023). Essa adaptação metabólica pode resultar em menor desempenho e o presente estudo pretende agregar com mais dados para essa hipótese.

3. OBJETIVO

O principal objetivo do estudo é investigar o efeito da breve exposição às dietas com baixa disponibilidade energética, mas com teores variados em proteína, na resposta metabólica óssea frente à realização de exercício físico.

Os objetivos específicos do estudo estão descritos a seguir:

- Investigar a resposta de CTX-1 (indicador de reabsorção óssea), P1NP (indicador de formação óssea) à ingestão de café da manhã, teste de exercício e seguido de um período de recuperação pós exercício.
- Avaliar se diferentes dietas, nomeadamente balanço energético (45 kcal/kg MLG), baixa disponibilidade energética (15 kcal/kg MLG) e baixa disponibilidade energética com maior teor de proteína (15 kcal/kg MLG e 1,5 g de proteína/kg) vai afetar as respostas assim citado.
- Avaliar se existe efeito de gênero nessas mesmas respostas.

Objetivo Secundário:

O objetivo secundário é investigar os efeitos das mesmas dietas no metabolismo em repouso e durante exercício, assim como na percepção de esforço ao longo de um teste de ciclismo, além do desempenho em um teste curto e de alta intensidade (Wingate).

4. HIPÓTESE

Considerando todas as evidências descritas na revisão de literatura, a hipótese principal deste estudo é que a breve exposição às dietas BDE e BDE-P afetará negativamente a resposta metabólica óssea a uma sessão aguda de exercício em comparação com a dieta BE. De acordo com uma meta-análise recente realizada pelo nosso grupo (DOLAN E et al., 2022), a resposta típica do CTX-1 tende a aumentar após uma sessão aguda de ciclismo, atingindo o pico entre 1 e 2 horas após o término do exercício. O P1NP geralmente permanece mais estável ao longo do exercício, apresentando um pequeno aumento logo após o exercício, mas retornando ao valor basal em seguida. Prevê-se que essas respostas sejam exacerbadas após a dieta BDE, ou seja, a resposta do CTX-1 será mais acentuada após as dietas BDE e BDE-P, com a BDE aumentando a resposta do CTX-1 e reduzindo a do P1NP em resposta ao exercício (FENSHAM et al., 2020; HAMMOND et al., 2019; PAPAGEORGIOU et al., 2018b). Além disso, espera-se que a BDE-P atenuará os efeitos dessa resposta (DOLAN; SALE, 2019; FENSHAM et al., 2020).

Considerando o efeito de gênero, não se prevê diferença significativa na resposta entre homens e mulheres, mas é importante destacar que qualquer diferença entre os gêneros provavelmente será menor do que o efeito principal do exercício e das dietas. Portanto, o poder do estudo para detectar diferenças entre os gêneros é limitado, e a possibilidade de erro tipo 2 é alta. Ainda assim, devido à falta de dados em homens, esses dados serão úteis para contribuir com a literatura.

Considerando o objetivo secundário do estudo, prevê-se que ambas as dietas com baixa disponibilidade energética irão alterar o metabolismo em comparação à dieta de balanço energético, resultando em uma maior taxa de oxidação de gordura e menor contribuição de carboidratos. Devido à falta de evidências, não é possível fazer uma hipótese forte sobre o efeito da BDE ou BDE-P no teste de *Wingate*, e essa parte do estudo é considerada exploratória.

5. MÉTODOS

Este estudo compreendeu um delineamento controlado, randomizado e cruzado. O desenho está alinhado com outros estudos recentemente conduzidos nesta área, permitindo maior comparabilidade entre os resultados do estudo (PAPAGEORGIU et al., 2017, 2018b). Todos os voluntários participaram de cinco sessões de teste. Durante a primeira sessão, foi realizado um teste de capacidade aeróbica (VO_2 máximo) para determinar a intensidade do exercício nos testes posteriores e informações preliminares foram coletadas. Antes de qualquer teste eles preencheram o PAR-Q (*physical activity readiness questionnaire*) para certificar a aptidão para atividade física (SCHWARTZ et al., 2021) e então realizaram o teste de VO_2 máximo para determinar a intensidade dos exercícios para as sessões subsequentes. A segunda sessão consistiu em uma familiarização do teste do exercício, que consiste em um teste ergométrico de 45 minutos pedalando “*steady state*”, seguido pelo teste de Wingate. O objetivo dessa familiarização foi reduzir os efeitos de aprendizagem nos testes subsequentes. A intensidade do teste ergométrico foi baseada nos resultados do VO_2 máximo, realizado no teste anterior, e representou uma intensidade de 65% do pico de potência máxima de cada participante. Durante esta sessão, a altura e o peso foram medidos e a avaliação das dobras cutâneas da gordura subcutânea, de acordo com as diretrizes da *International Society for the Advancement of Kinanthropometry* (ISAK), foi usada para estimar a composição corporal. As três sessões experimentais de teste foram realizadas em ordem aleatória. Para o contrabalanceamento das medidas repetidas, foi utilizado um esquema de Quadrado Latino (Latin-Squares Design) (Corriero EF, 2021; ALLEN, 2017), com 3 diferentes ordens de coleta. A ordem de coleta de cada indivíduo foi determinada a partir de uma sequência aleatória gerada pelo site www.sealedenvelope.com, em blocos de 3 ou 6 participantes. A sequência foi mantida por um membro do grupo de pesquisa que não tem envolvimento na coleta de dados ou com os participantes do estudo. O estudo não foi cegado devido ao fácil entendimento da dieta em questão de acordo com o volume das refeições. Os testes experimentais incluíram: 1 - um teste de controle, no qual os participantes mantiveram o balanço energético (definido como uma ingestão de 45 kcal/kg MLG/dia; BE); 2 - um teste de baixa disponibilidade de energia (15 kcal/kg MLG/dia; BDE) e um teste de baixa disponibilidade de energia, com ingestão proteica igual ao BE, ou seja 1,5g/kg de peso (BDE-P). A baixa

disponibilidade de energia foi alcançada apenas através da restrição alimentar, pois foi relatado que a restrição alimentar tem um impacto mais severo no metabolismo ósseo do que a BDE obtida através do aumento do gasto energético do exercício (PAPAGEORGIOU et al., 2017). Para garantir a conformidade e a validade alimentar, os participantes receberam todos os alimentos durante os 4 dias de cada teste experimental. Durante todos os testes, os participantes também receberam um suplemento multivitamínico e mineral (A - Z cápsulas, Centrum®, Pfizer, Nova Iorque, EUA; PAPAGEORGIOU et al., 2018). O objetivo disso foi garantir que os resultados pudessem ser isolados da disponibilidade de energia e não confundidos por deficiências em outros micronutrientes importantes.

Cada estudo experimental durou cinco dias, ou seja, no dia 1, os participantes chegaram no laboratório num estado de jejum, e tiveram a taxa metabólica de repouso (TMR) e uma amostra de sangue (linha de base) coletadas. Em seguida, receberam um café da manhã calculado de acordo com a disponibilidade energética que estavam e, então, após 30 minutos, realizaram o teste ergométrico e as amostras de sangue foram coletadas imediatamente, após o término do teste ergométrico, após o teste Wingate e 1 e 2 horas após o exercício. Ao terminarem o teste ergométrico, tiveram 5 minutos para descanso e para coletar a amostra pós-exercício, e então iniciaram o teste Wingate. Eles seguirão sua dieta alocada pelos próximos quatro dias (dias 1 a 4). No dia 5, eles retornaram ao laboratório e repetiram exatamente os procedimentos que foram feitos no primeiro dia. As amostras de sangue foram usadas para avaliar biomarcadores ósseos (CTX-1 e P1NP). O desenho do estudo está resumido na figura 4.

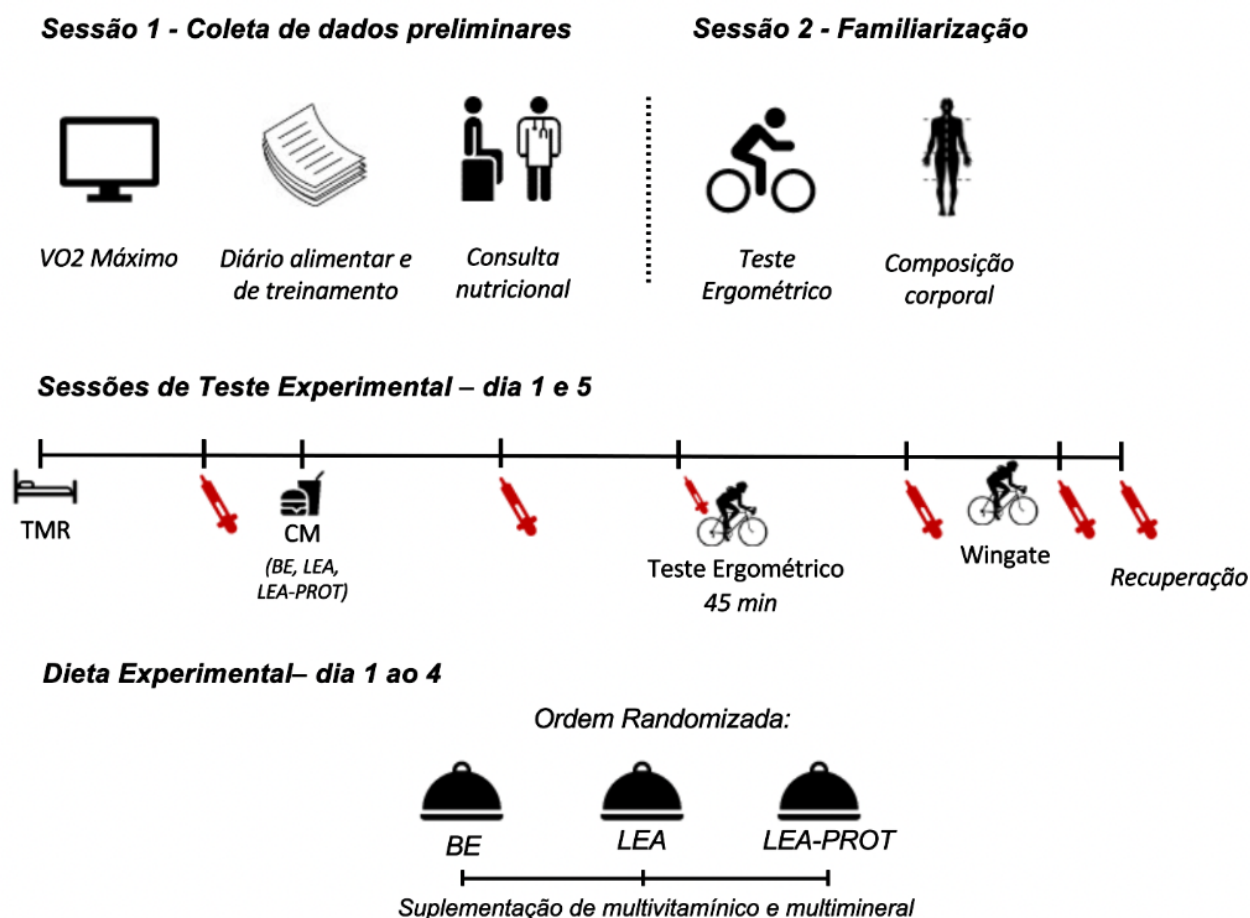


Figura 4: Visão Geral do Projeto Experimental

5.1 Participantes

Foram recrutados nove mulheres e dez homens saudáveis, fisicamente ativos (definido como participação em exercício moderado por ≥ 3 horas/semana, mas não altamente treinadas ou competitivas em qualquer esporte em particular ≥ 10 horas/semana), mulheres com ou sem uso de contraceptivo oral, que participaram de cinco sessões de teste. O tamanho da amostra foi calculado usando o software G*Power 3.1. Com base nas mudanças no CTX-1 e P1NP relatadas em uma meta-análise recentemente publicada pelo nosso (DOLAN E et al., 2022; DOLAN et al., 2024), foi prevista um efeito $f=0,4$ para a resposta dos biomarcadores de metabolismo ósseo ao exercício. Foi estimado que as intervenções podem reduzir essa resposta pela metade ($f = 0,20$), indicando que 18 participantes seriam necessários para atingir

80% de poder em $p < 0,05$. É importante destacar que não existem muitas evidências nessa área, e nenhum outro estudo com o mesmo desenho e intervenção foi realizado. Por isso, esse cálculo é considerado como um guia, e o estudo é definido como primariamente exploratório. Todos os requisitos do estudo foram explicados com clareza para cada participante e eles tiveram a oportunidade de fazer perguntas antes de dar o consentimento informado por escrito. O projeto foi aprovado pelo Código de Ética - CAAE: 33784720.7.0000.0068.

5.2 Análise nutricional

A ingestão nutricional foi avaliada usando um diário alimentar. Uma nutricionista compareceu a esta sessão e forneceu instruções sobre a manutenção do diário alimentar. As participantes foram solicitadas a manter um diário alimentar não consecutivo de três dias, composto por dois dias da semana e um fim de semana; foram instruídas a listar todos os alimentos consumidos, juntamente com marcas e quantidades. Recordações dietéticas foram verificadas e perguntas foram feitas se algo não estivesse claro. O motivo desse diário alimentar foi analisar o hábito alimentar dos participantes para que as dietas de intervenção pudessem respeitar parte desses hábitos e, conseqüentemente, auxiliar na adesão à intervenção, não para calcular as dietas. A ingestão total de energia (Kcal), proteína, carboidrato, gordura (g/kg/dia) e micronutrientes foi avaliada quantitativamente a partir desses diários, usando o software WebDiet.

5.3 Dieta experimental

Durante o BE, BDE e BDE-PROT, os participantes consumiram 45, 15 e 15 kcal/kg MLG/dia, respectivamente. A disponibilidade energética foi calculada com a equação $DE = \text{caloria de intervenção (45 ou 15 kcal)} \times \text{MLG}$. A Massa Livre de Gordura (MLG) foi calculada com base em indicadores de dobras cutâneas aferidos por meio de antropometria padronizada, seguindo os protocolos da *International Society for the Advancement of Kinanthropometry* (ISAK). Embora a Absorciometria de Raios X de Dupla Energia (DEXA) seja considerada o padrão-ouro para análise da composição corporal devido à sua alta precisão, a técnica de antropometria foi escolhida neste estudo por sua praticidade, conveniência, e pela possibilidade de realizar medições repetidas ao longo do tempo. Isso permitiu um monitoramento mais frequente e contínuo dos participantes durante o estudo. Os limiares de calorias escolhidos foram

baseados em estudos anteriores que demonstraram alterações nos biomarcadores ósseos com intervenção de 15 kcal/kg MLG/dia (IHLE; LOUCKS, 2004a; PAPAGEORGIU et al., 2018b). As dietas experimentais foram compostas pelos mesmos produtos alimentares e tiveram a composição padronizada (BE= 60% carboidrato, 15% proteína e 25% gordura; BDE= 60% carboidrato, 15% proteína e 25% gordura; BDE-P manteve a quantidade de proteína [1.5g/kg/dia] do BE), mas teve a quantidade de carboidrato e lipídeos reduzida para manter o mesmo valor calórico do BDE. Um nutricionista elaborou um cardápio para cada teste utilizando o software WebDiet (um exemplo de cardápio aplicado está descrito na tabela 1). Todas as refeições foram pesadas e embaladas para entregar a cada participante. A aderência à dieta foi verbalmente e diariamente confirmada por meio de perguntas para cada participante a fim de confirmar se foram consumidos os itens embalados nas quantidades fornecidas. Um suplemento multivitamínico e multimineral (A - Z cápsulas, Centrum®, Pfizer, Nova Iorque, EUA – as informações nutricionais desse produto estão disponíveis online: <https://www.centrum.com.br/>) foi fornecido durante todas as sessões de dieta experimental para garantir a adequada ingestão de micronutrientes, facilitando a isolação dos resultados aos valores energéticos de cada dieta.

Tabela 1: Exemplo de cardápio de uma participante aplicado à cada condições de dieta

	BE	LEA	LEA-PROT
Cardápio	<p>Café da manhã:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ovo de galinha cozido (90g) - Café solúvel em pó (5g) - Goma de tapioca (60g) - Aveia em flocos (45g) - Banana prata (55g) <p>- Leite de vaca integral em pó (16g)</p> <p>Lanche da manhã:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Banana prata (55g) - Aveia em flocos (45g) - Torrada tradicional (20g) - Cream cheese (18g) <p>Almoço:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Arroz branco cozido (150g) - Feijão carioca cozido (168g) - Berinjela refogada (125g) - Frango desfiado (60g) <p>Lanche da tarde:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pão de forma integral (50g) - Queijo muçarela (30g) - Café solúvel em pó (5g) <p>- Leite de vaca integral em pó (16g)</p> <p>Jantar:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Arroz branco cozido (150g) - Feijão carioca cozido (140g) - Berinjela refogada (125g) - Frango desfiado (80g) <p>Ceia:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cacau em pó (15g) <p>- Leite de vaca integral em pó (16g)</p>	<p>Café da manhã:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ovo de galinha cozido (45g) - Café solúvel em pó (5g) <p>- Leite de vaca integral em pó (16g)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Goma de tapioca (15g) <p>Lanche da manhã:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Torrada integral (20g) - Cream cheese (18g) <p>Almoço:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Frango desfiado (32g) - Batata doce cozida (63g) - Abobrinha italiana cozida (60g) <p>Lanche da tarde:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Torrada integral (20g) - Cream cheese (18g) <p>Jantar:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ovo de galinha cozido (45g) - Brócolis cozido (54g) - Batata doce cozida (130g) - Abobrinha italiana cozida (120g) <p>Ceia:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Leite de vaca integral em pó (16g) - Cacau em pó (15g) 	<p>Café da manhã:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Café solúvel em pó (5g) - Goma de tapioca (18g) - Clara de ovo cozida (120g) <p>Lanche da manhã:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Clara de ovo cozida (90g) - Cream cheese (18g) - Torrada integral - (20g) <p>Almoço:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Frango desfiado (80g) - Abobrinha italiana cozida (60g) <p>Lanche da tarde:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Clara de ovo cozida (120g) - Maçã Fuji (140g) <p>Jantar:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Brócolis cozido (54g) - Clara de ovo cozida (150g) - Frango desfiado (100g)
Carboidrato			
<i>g/kg/dia</i>	4,5	1,58	0,74
<i>g/dia</i>	375,77	131,85	61,53
<i>kcal</i>	1503,09	527,4	246,12
<i>%VET</i>	57	60	28
Lipídeos			
<i>g/kg/dia</i>	0,84	0,29	0,18
<i>g/dia</i>	70,32	24,42	14,65
<i>kcal</i>	632,88	219,75	131,85
<i>%VET</i>	24	25	15
Proteína			
<i>g/kg/dia</i>	1,5	0,39	1,5
<i>g/dia</i>	125,25	32,96	125,25
<i>kcal</i>	501	131,85	501
<i>%VET</i>	19	15	57
Kcal/dia	2637	879	879
Kcal/kgMLG	45	15	15

5.4 Teste de capacidade aeróbica

A capacidade aeróbica foi avaliada usando um teste incremental para fadiga volitiva. O teste começou em 50 watts e aumentou em 25 watts a cada 3 minutos até que a fadiga impediu os participantes de continuar ou de manter a potência necessária. As trocas gasosas foram registradas ao longo do teste usando o calorímetro indireto K5 (K5 - Cosmed, Itália). Incentivo verbal foi fornecido para garantir que os participantes atingissem seu limite antes de desistirem do teste. A frequência cardíaca foi registrada continuamente (Polar H7, Polar, Kempele, Finlândia) durante todo o teste. A percepção subjetiva do esforço foi avaliada durante os últimos 10 segundos de cada estágio, com o auxílio da escala de Percepção Subjetiva do Esforço de Borg (PSE). O pico de VO_2 foi relatado como o período de 15 segundos maior durante as últimas fases do teste.

5.5 Teste ergométrico

O teste de esforço principal compreendeu um teste de 45 minutos, realizado em cicloergômetro (Lode, Reino Unido) e com uma intensidade de 50% da capacidade máxima (W_{pico}), conforme definido pelo teste incremental até exaustão, durante 5 minutos e, em seguida, 40 minutos a 65% da capacidade máxima (W_{pico}). O teste de ciclismo prolongado foi escolhido porque evidências recentes do nosso grupo indicaram que é uma forma de exercício que resultou em uma maior resposta dos biomarcadores do metabolismo ósseo (DOLAN et al., 2022). A PSE foi avaliada a cada 10 minutos de exercício até o final, com o auxílio da escala de Percepção Subjetiva do Esforço de Borg.

5.6 Wingate

Após o teste ergométrico descrito acima, as participantes receberam um período de descanso de 5 minutos, durante o qual a amostra de sangue pós-exercício foi coletada. Elas então realizaram um teste de Wingate para avaliar o efeito das diferentes dietas no desempenho do exercício. As participantes realizaram o teste de Wingate de membros inferiores em uma bicicleta ergométrica (Lode Excalibur, Lode,

Holanda). Para tal, permaneceram sentadas no ergômetro com os pés firmemente presos aos pedais, e a carga foi ajustada em $0,05 \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de massa corporal. Esse teste foi realizado após o teste de ciclismo prolongado descrito acima e durou 30 segundos. As participantes foram solicitadas a executar a velocidade máxima durante o período e foram encorajadas verbalmente durante o mesmo. A potência média (W), a potência de pico (W) e o trabalho realizado (kJ) foram registrados como medidas de desempenho.

5.7 Coleta de sangue e análise

Os participantes foram instruídos a manter os hábitos alimentares e de atividades habituais (evitando exercícios atípicos) por um período mínimo de três dias antes do teste, assim como evitar o consumo de álcool durante as 48 horas antes do teste. As instruções foram confirmadas verbalmente com cada participante antes do teste e após o teste, com seguimento das dietas. As amostras da manhã foram coletadas após um jejum noturno. As amostras foram coletadas da veia antecubital, armazenada em tubo especiais com heparina e o soro foi separado por centrifugação antes do armazenamento a -80°C .

As concentrações séricas do marcador de reabsorção óssea telopeptídeo carboxi-terminal do colágeno tipo I (CTX) e do marcador de formação óssea propeptídeo N-terminal do procolágeno tipo I (P1NP) foram obtidas por meio do método automatizado de eletroquimioluminescência (Cobas E411, Roche Diagnostics®, Mannheim, Alemanha). Os limites de detecção do CTX e P1NP foram de 10 ng/L e $5 \mu\text{g/L}$, respectivamente. Os coeficientes de variação (CV) intra- e interensaio, respectivamente, foram de 2,5% e 3,4% para o CTX e 2,2% e 1,8% para o P1NP.

5.8 Taxa metabólica de repouso (TMR):

A TMR foi avaliada usando um sistema calorimétrico indireto (K5 - Cosmed, Itália). Os participantes se reportaram ao laboratório após um jejum noturno e foram conectados ao sistema usando uma máscara que cobre a boca e o nariz, e os gases expirados foram continuamente registrados durante todo o processo. Os participantes ficaram deitados sem estímulos por 30 minutos. O menor estado estacionário atingido (isto é, variação no VO_2 e quociente respiratório <10%) durante os 20 minutos finais da análise, foi identificado e a TMR calculada usando a equação de Weir (WEIR, 1949).

5.9 Análise estatística

O resumo das características da amostra e visualizações descritivas foram feitas usando médias e desvios padrão para variáveis contínuas, e contagens e proporções (%) para variáveis categóricas. As características da amostra foram comparadas entre os generos por meio do teste t de duas amostras de Welch.

O efeito da condição dietética na composição corporal (ou seja, peso corporal, percentual de massa gorda, massa livre de gordura/kg), variáveis metabólicas (ou seja, TMR, TMR ajustado pela massa livre de gordura/kg, quociente respiratório, consumo de carboidratos e gorduras) e de desempenho nos testes (RPE, potência de pico, potência média, tempo para pico, trabalho total realizado e taxa absoluta ou relativa de fadiga) foi testado usando modelos lineares mistos, com um efeito fixo para a dieta e um efeito de intercepto aleatório para o participante. Covariáveis que mostraram a diferença entre as linhas de base entre as condições (ou seja, BEPRE - BDEPRE e BDE-PPRE) também foram adicionadas ao modelo (ou seja, uma abordagem ANCOVA). Essas covariáveis ajustam o desequilíbrio da linha de base entre os participantes, bem como consideram as diferenças nas medições pré-intervenção entre as condições. Essa abordagem demonstrou fornecer estimativas mais precisas e maior poder estatístico em projetos de crossover em comparação com outras estratégias típicas, como escores de mudança (MEHROTRA, DEVAN, 2014; METCALFE, 2009). O modelo que analisa a PE também apresentou um efeito fixo do tempo e uma interação entre dieta e tempo. Além disso, em todos os modelos, foi feita

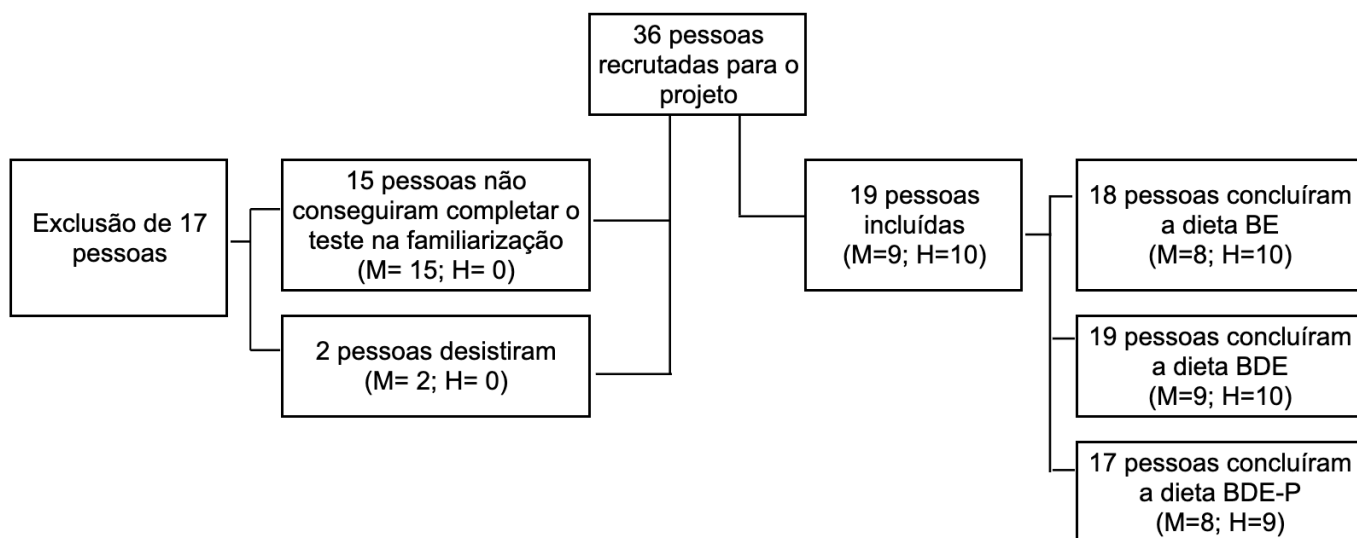
uma análise exploratória, incluindo um termo de interação entre a condição dietética e o gênero, a fim de avaliar possíveis efeitos diferentes das dietas entre os gêneros.

Após ajustar cada modelo, foi utilizada a ANOVA de Tipo III para determinar a significância estatística dos termos do modelo. Quando um valor de F significativo foi encontrado para o termo de condição dietética, foram feitas comparações par a par entre as condições com o ajuste de Tukey e relatadas, juntamente com as diferenças médias, intervalos de confiança de 95% e valores de p. Todas as análises assumiram um alfa de 5% e foram executadas no R, usando 'lmerTest' para ajustar modelos mistos e 'ggeffects' para calcular comparações e previsões do modelo.

6. RESULTADOS

6.1 Participantes

Inicialmente, 36 pessoas saudáveis foram recrutadas para participarem do estudo (26 mulheres e 10 homens). Destes 36 voluntários, 19 completaram os requisitos de inclusão e realização do teste de exercício. Duas voluntárias do gênero feminino desistiram antes da familiarização por falta de disponibilidade de tempo; quinze mulheres não conseguiram completar o teste de ciclismo no momento da familiarização. Nove mulheres conseguiram participar do projeto e duas delas deixaram de fazer uma das dietas, uma por falta de disponibilidade de tempo e outra por dificuldade de realizar a intervenção, concluindo duas condições de dieta. Dez homens conseguiram participar do projeto e apenas um deles deixou de completar uma dieta por dificuldade de realizar a intervenção. O fluxo de inclusão e exclusão está descrito na figura 5.

Figura 5: Fluxo de recrutamento das voluntárias.

M: mulher; H: homem.

As características dos participantes incluídos no projeto estão resumidas na Tabela 2. A média de idade e peso foi semelhante entre os participantes e a altura maior entre os homens do que as mulheres. O IMC médio de 24,78 kg/m² (\pm 2,71) classifica os participantes como de peso normal, conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS). Em relação à composição corporal, as mulheres apresentaram um maior percentual de gordura comparado aos homens ($p=0.005$), enquanto os homens tiveram uma maior MLG ($p=0.003$).

Tabela 2: Características dos participantes

Resultado	Total (n=19)	Mulher (n=9)	Homem (n=10)	valor-p
Idade (anos)	29 (8)	31 (7)	27 (8)	0.3
Altura (cm)	171 (8)	166 (8)	174 (7)	0.034
Peso (kg)	72 (11)	69 (11)	75 (10)	0.2
IMC (peso/altura ²)	24.78 (2.71)	24.86 (3.05)	24.71 (2.54)	>0.9
Gordura corporal (%)	17.9 (5.7)	21.9 (4.7)	14.7 (4.4)	0.005
Massa livre de gordura (kg)	59 (9)	53 (5)	64 (8)	0.003
VO ² (ml/kg/min)	43 (11)	38 (10)	48 (11)	0.07
Circunferência da cintura (cm)	77.1 (6.1)	73.4 (5.5)	80.4 (4.6)	0.009
Circunferência do quadril (cm)	101 (9)	105 (10)	98 (6)	0.077
Circunferência abdominal (cm)	80.3 (5.6)	79.4 (6.7)	80.9 (4.9)	0.6

Os dados são média (DP). Os valores p são de testes t para duas amostras.

6.2 Intervenção Nutricional

A média do consumo habitual de alimentos, assim como a distribuição calórica e de nutrientes de cada dieta experimental está descrita na tabela 3 para mulheres e na tabela 4 para homens. O valor de p indica que há uma diferença estatisticamente significativa entre as dietas. A média de ingestão alimentar habitual relatada pelos participantes foi inferior às dietas de BE ($p=<0.001$). O consumo habitual de proteína (128g, DP: 40) pelas participantes mulheres foi superior em comparação às dietas de intervenção balanceada (102g, DP: 15; $p= 0.03$). Já a ingestão de carboidratos habitual relatada pelas mulheres foi inferior à dieta de intervenção balanceada (183g, DP: 51 vs. 354g, DP: 32; $p=0.001$), assim como o que foi apresentado pelos participantes homens (275g, DP: 52 vs. 428g, DP: 58; $p=0.001$).

Tabela 3: Média da dieta habitual e intervenção nutricional de mulheres.

	Habitual	BE	BDE	BDE-P
Mulher				
Energia				
Kcal	1,680 (309)	2,376 (229)*	799 (74)*	817 (54)*
Kcal/MLG	32 (7)	45 (0)*	15 (0)*	15 (0)*
Kcal/TMR	-	1.29 (0.28)*	0.45 (0.09)*	0.46 (0.10)*
Proteína				
g	128 (40)	102 (15)*	30 (3)*	107 (13)
g/kg	1.91 (0.70)	1.50 (0.00)*	0.44 (0.03)*	1.50 (0.00)*
% do VET	32 (10)	17 (1)*	15 (0)*	52 (4)*
Carboidrato				
g	183 (51)	354 (32)*	120 (11)*	63 (7)*
g/kg	2.74 (0.84)	5.27 (0.42)*	1.74 (0.12)*	0.89 (0.16)*
% do VET	43 (9)	60 (3)*	60 (0)*	31 (4)*
Gordura				
g	46 (15)	63 (11)*	22 (2)*	15 (2)*
g/kg	0.69 (0.26)	0.93 (0.14)*	0.32 (0.02)*	0.22 (0.03)*
% do VET	32 (16)	24 (3)*	25 (0)	17 (2)*
Fibra (g)	24 (11)	31 (10)	12 (2)*	8 (3)*
Cálcio (mg)	714 (328)	698 (212)	306 (222)*	381 (197)*
Sódio (mg)	1,631 (931)	1,043 (169)*	533 (229)*	1,069 (535)*
Potássio (mg)	3,102 (1,107)	4,310 (1,008)*	1,867 (287)*	2,103 (208)*

Os dados são média (DP). Os valores p são do termo do grupo de dieta de modelos lineares mistos. N=9. *representa uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre determinada dieta experimental e a dieta habitual. Valores de p são resultados de modelos lineares mistos, tendo a dieta como fator fixo, e a dieta habitual como nível de referência.

Tabela 4: Média da dieta habitual e intervenção nutricional de homens.

	Habitual	BE	BDE	BDE-P
Homem				
Energia				
Kcal	2,185 (337)	2,871 (378)*	957 (126)*	972 (124)*
Kcal/MLG	38 (8)	45 (0)*	15 (0)*	15 (0)*
Kcal/TMR	-	1.47 (0.43)*	0.48 (0.07)*	0.46 (0.10)*
Proteína				
g	124 (29)	113 (16)	36 (5)*	114 (16)
g/kg	1.64 (0.34)	1.50 (0.00)*	0.48 (0.03)*	1.50 (0.00)*
% do VET	23 (5)	16 (1)*	15 (0)*	47 (3)*
Carboidrato				
g	275 (52)	428 (58)*	144 (19)*	90 (13)*
g/kg	3.78 (1.28)	5.69 (0.42)*	1.91 (0.12)*	1.19 (0.14)*
% do VET	50 (6)	60 (1)*	60 (0)*	37 (2)*
Gordura				
g	69 (21)	79 (10)	27 (3)*	17 (2)*
g/kg	0.92 (0.26)	1.05 (0.07)*	0.35 (0.02)*	0.23 (0.03)*
% do VET	36 (7)	25 (0)*	25 (0)*	16 (1)*
Fibra (g)	30 (13)	43 (10)*	15 (3)*	11 (3)*
Cálcio (mg)	594 (179)	638 (266)	285 (113)*	448 (131)
Sódio (mg)	2,016 (951)	1,830 (702)	694 (220)*	824 (385)*
Potássio (mg)	2,612 (693)	3,987 (747)*	2,141 (566)	2,289 (450)

Os dados são média (DP). Os valores p são do termo do grupo de dieta de modelos lineares mistos. N=10. *representa uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre determinada dieta experimental e a dieta habitual. Valores de p são resultados de modelos lineares mistos, tendo a dieta como fator fixo, e a dieta habitual como nível de referência.

6.3 Biomarcadores do metabolismo ósseo

A figura 6 mostra a média e DP das mudanças dos biomarcadores (CTX e P1NP) ao longo da sessão experimental, com base na condição pré-dieta e pós-dieta. O painel A mostra uma tendência visual de aumento de CTX-1 após a dieta BDE-P; assim como o painel B mostra uma tendência visual de redução de P1NP após essa

mesma condição, mas nenhuma diferença significativa para nenhum indicador. A figura 7 mostra no eixo Y o valor previsto dos dois biomarcadores diferentes: CTX (painel A) e P1NP (painel B). No eixo X, temos pontos temporais ao longo do tempo, marcados como 0, 30, 75, 143, e 203 minutos. A linha laranja representa o período pré-intervenção, e a linha azul representa o período pós-intervenção. As áreas sombreadas ao redor das linhas indicam a variação ou incerteza nas previsões, com as bandas mais amplas mostrando maior variabilidade.

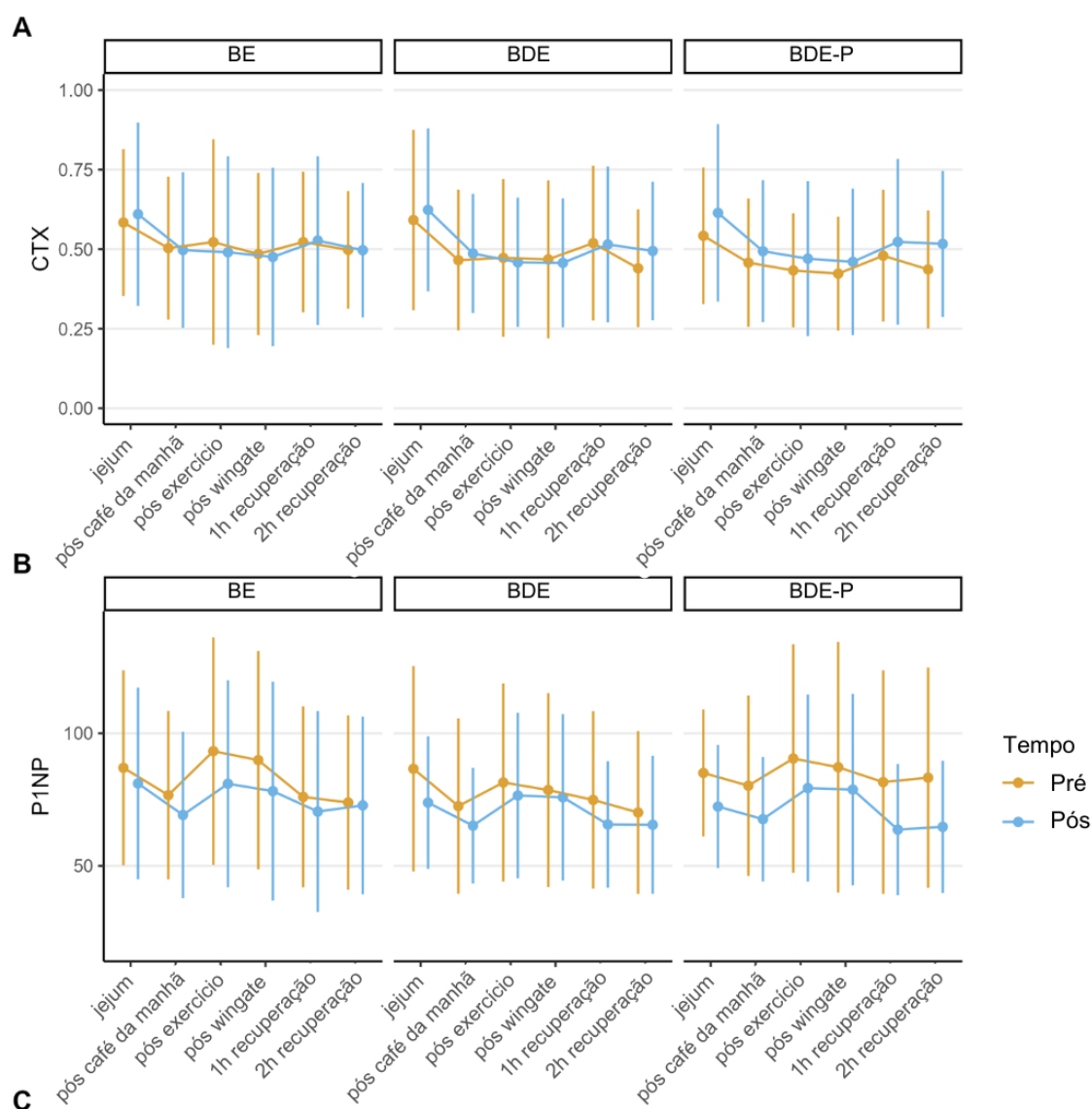


Figura 6. Variação média dos biomarcadores ósseos em diferentes momentos e condições de dieta em resposta ao exercício.

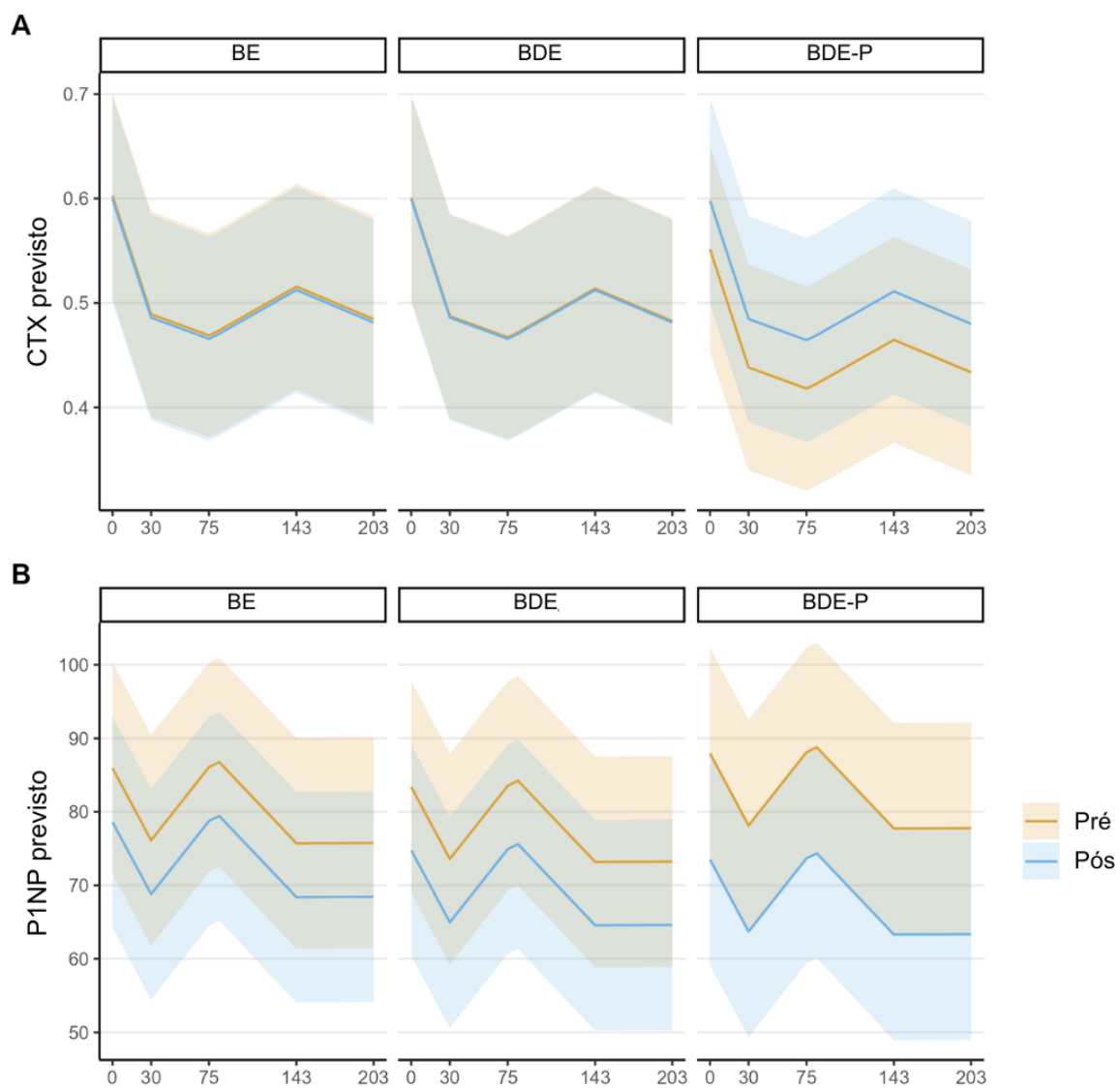


Figura 7. Impacto BDE e BDE nas respostas previstas dos biomarcadores ósseos (CTX-1 e P1NP) em condições pré e pós-exercício

6.4 Composição corporal

A média da mudança da composição corporal de acordo com cada intervenção está descrita na tabela 5. No geral, os participantes apresentaram uma leve redução de peso após todas as intervenções nutricionais ($F=2,03$, $p=0,15$), mas nenhuma diferença significativa, ou seja, 4 dias de dieta não foi suficiente para resultar em mudanças bruscas no peso corporal. A condição da dieta não teve um efeito estatisticamente significativo no percentual de gordura ($F=3,09$, $p=0,06$) ou MLG/Kg ($F=0,41$, $p=0,66$). Embora o modelo exploratório que adicionou a interação entre dieta e gênero não tenha alterado significativamente os resultados em relação ao peso corporal, houveram algumas mudanças nos modelos de percentual de gordura e MLG. Para o percentual de gordura, o efeito do gênero foi significativo ($F=20,03$, $p<0,001$) e a condição da dieta também se tornou significativa ($F=4,21$, $p=0,025$), com comparações par a par mostrando uma redução significativa na gordura corporal em BDE-P em comparação com BE (Diferença média = $-2,03$ kg [IC95% $-3,36$, $-0,71$], $p=0,01$). Para MLG, a interação entre dieta e gênero foi estatisticamente significativa ($F=4,06$, $p=0,03$), com um aumento em MLG em BDE-P em comparação com BE nas mulheres (Diferença média = $1,82$ Kg [IC95% $0,52$, $3,11$], $p=0,02$), mas não nos homens (todos $p>0,05$).

Tabela 5. Mudança da composição corporal de acordo com a intervenção nutricional

Resultado	BE (pré)	BE (pós)	BDE (pré)	BDE (pós)	BDE-Prot (pré)	BDE-Prot (pós)
Mulher						
Peso (kg)	68 (10)	67 (10)	69 (11)	68 (10)	71 (8)	70 (8)
Gordura (%)	21.3 (3.3)	21.6 (3.0)	22.0 (3.8)	21.4 (3.1)	21.4 (4.2)	20.8 (3.9)
MLG (kg)	53.0 (6.2)	50.5 (5.9)	52.4 (5.4)	52.2 (6.4)	55.7 (5.4)	55.3 (4.5)
Homem						
Peso (kg)	76 (9)	75 (9)	76 (10)	74 (10)	76 (10)	74 (10)
Gordura (%)	14.5 (4.7)	14.1 (4.3)	14.2 (5.0)	13.4 (4.2)	13.3 (4.6)	12.9 (4.5)
MLG (kg)	65 (8)	64 (7)	66 (9)	64 (8)	66 (8)	64 (8)

Os dados são média (DP).

6.5 Metabolismo energético

6.5.1 Metabolismo energético em repouso

As condições dietéticas não tiveram um efeito estatisticamente significativo sobre o TMR ($F=0,71$, $p=0,50$) ou TMR/MLG ($F=1,54$, $p=0,23$), como apresentado na tabela 6. No entanto, houve um efeito estatisticamente significativo da dieta sobre o RQ ($F=6,24$, $p=0,006$), com o RQ sendo significativamente menor em BDE-P em comparação com BE (Diferença média = $-0,07$ [IC95% $-0,11$, $-0,03$], $p=0,004$). Também houve um efeito significativo da dieta na utilização de carboidratos ($F=7,47$, $p=0,0025$) e gorduras ($F=7,47$, $p=0,0025$), com a utilização de carboidratos sendo menor tanto em BDE (Diferença média: $-14,77\%$ [IC95% $-26,22$, $-3,32$], $p=0,034$) quanto em BDE-P (Diferença média: $-21,35\%$ [IC95% $-32,80$, $-9,90$], $p=0,002$), e a utilização de gorduras sendo maior em ambos os grupos BDE (Diferença média: $+14,77\%$ [IC95% $3,32$, $26,22$], $p=0,034$) e BDE-P (Diferença média: $+21,35\%$ [IC95% $9,90$, $32,80$], $p=0,002$) em comparação com BE. Modelos exploratórios incluindo uma interação entre dieta e gênero não alteraram esses resultados, e a interação não foi significativa em todos os modelos ($p>0,05$).

Tabela 6. Resultados da TMR mensurada (mTMR) e substratos energéticos

Resultado	BE (pré)	BE (pós)	BDE (pré)	BDE (pós)	BDE-Prot (pré)	BDE-Prot (pós)
Mulher						
TMR (Kcal)	1,706 (702)	1,917 (469)	1,868 (466)	1,810 (340)	1,579 (428)	1,857 (373)
TMR/MLG	33 (16)	36 (6)	34 (7)	34 (7)	28 (8)	34 (7)
RQ	0.84 (0.06)	0.84 (0.10)	0.85 (0.09)	0.78 (0.07)	0.79 (0.15)	0.75 (0.07)
Carboidrato (%)	44 (20)	47 (32)	50 (30)	29 (24)	40 (27)	19 (19)
Gordura (%)	56 (20)	53 (32)	50 (30)	71 (24)	60 (27)	81 (19)
Homem						
TMR (Kcal)	2,232 (923)	2,076 (550)	2,196 (353)	2,020 (514)	2,420 (714)	2,203 (479)
TMR/MLG	35 (13)	33 (8)	34 (3)	32 (5)	37 (12)	35 (8)
RQ	0.76 (0.06)	0.78 (0.09)	0.79 (0.08)	0.75 (0.06)	0.77 (0.06)	0.71 (0.05)
Carboidrato (%)	21 (17)	29 (27)	29 (24)	17 (14)	22 (19)	9 (12)
Gordura (%)	79 (17)	71 (27)	71 (24)	83 (14)	78 (19)	91 (12)

Os dados são média (DP).

6.5.2 Metabolismo energético durante o exercício

Os dados de média do metabolismo durante o exercício estão descritos na tabela 7. A dieta não teve um efeito estatisticamente significativo sobre o gasto energético ($F=0,37$, $p=0,69$), utilização de gordura (Kcal/min) ($F=0,08$, $p=0,92$) ou utilização de carboidratos (Kcal/min) ($F=0,16$, $p=0,86$). Analisando a utilização de gordura ($F=0,09$, $p=0,91$) e carboidratos ($F=0,09$, $p=0,91$) como uma porcentagem do gasto energético total, também não foi observado efeito estatisticamente significativo da dieta.

Tabela 7. Média de gasto energético, utilização de carboidratos e gorduras durante o exercício de acordo com a intervenção nutricional

Característica	BE (pré) n = 18	BE (pós) n = 18	BDE (pré) n = 19	BDE (pós) n = 19	BDE-P (pré) n = 17	BDE-P (pós) n = 17
EE (kcal/min)	13.24 (3.15)	12.75 (2.34)	12.60 (3.34)	12.52 (2.73)	12.58 (3.01)	12.96 (2.99)
Gordura (kcal)	6.3 (4.0)	5.4 (3.9)	5.3 (3.6)	5.8 (3.7)	6.1 (3.7)	7.1 (4.3)
Carboidrato (kcal)	7.0 (2.9)	7.3 (3.7)	7.3 (2.7)	6.8 (3.0)	6.5 (2.7)	5.8 (3.2)
Gordura (%)	45 (22)	42 (28)	41 (23)	45 (25)	46 (25)	53 (28)
Carboidrato (%)	55 (22)	58 (28)	59 (23)	55 (25)	54 (25)	47 (28)

Os dados são média (DP).

6.6 Desempenho esportivo

Em relação ao PSE (Percepção Subjetiva de Esforço), o modelo inicial mostrou um efeito significativo do tempo ($F=201,09$, $p<0,0001$), mas não da condição da dieta ($F=0,46$, $p=0,63$), nem da interação entre tempo e dieta ($F=0,67$, $p=0,51$). No entanto, a interação entre a condição da dieta e o gênero foi estatisticamente significativa no modelo exploratório ($F=5,81$, $p=0,004$). A Figura 8 mostra as medições previstas de PSE ao longo do tempo após a realização de cada condição dietética e de acordo com cada gênero, com a BDE mostrando visualmente valores mais altos de PSE ao longo do teste em comparação com BE nos homens, mas não nas mulheres. De fato, comparações pareadas ajustadas pelo efeito do tempo mostraram que o PSE foi maior na BDE em comparação com BE nos homens (Diferença média = 1,40 [IC 95% 0,45, 2,35], $p=0,012$), mas não nas mulheres. Outras comparações não foram estatisticamente significativas (todas $p>0,05$).

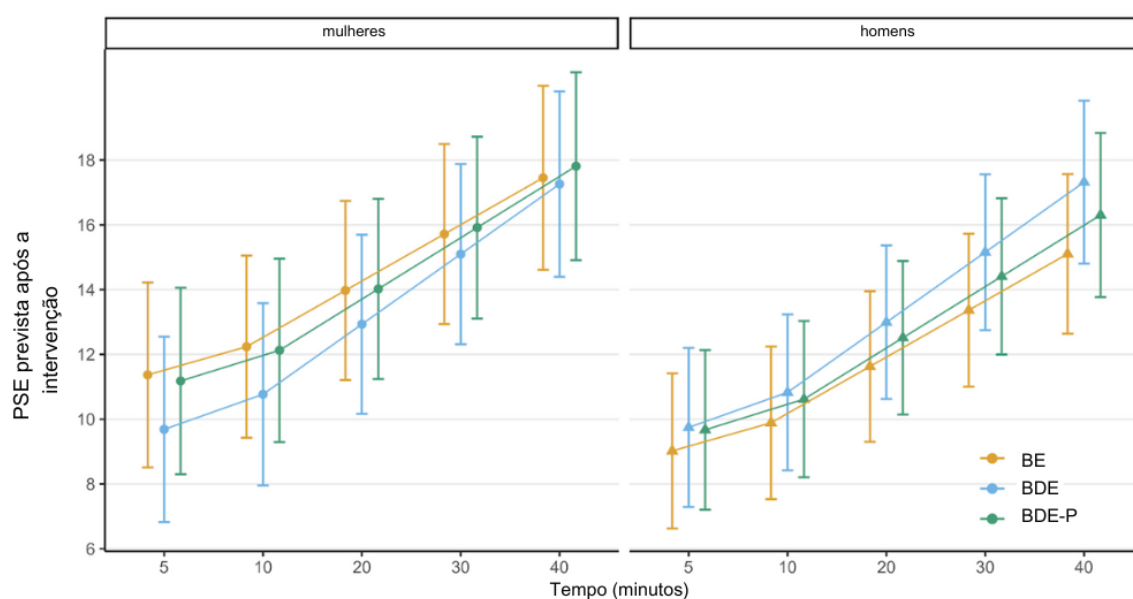


Figura 8. Taxa de percepção de esforço durante o teste de exercício. Os pontos mostram os valores médios previstos e os intervalos de confiança de 95% do PSE dos pós intervenção para cada gênero e grupo experimental à medida que o tempo avança.

A condição da dieta não teve um efeito estatisticamente significativo sobre a potência máxima ($F=0,75$, $p=0,47$), tempo para atingir o pico ($F=1,97$, $p=0,16$), taxa relativa ($F=1,82$, $p=0,18$) ou taxa absoluta de fadiga ($F=0,95$, $p=0,40$), como demonstrado na tabela 8. No entanto, a dieta teve um efeito estatisticamente

significativo sobre a potência média ($F= 4,35$, $p=0,02$) e o trabalho total realizado ($F=3,55$, $p=0,04$). Os testes par-a-par mostraram que a potência média foi menor em BDE-P comparado a BE (Diferença média = $-40,80$ W [IC95% $-68,92$, $-12,68$], $p=0,015$), e o trabalho total também foi menor em BDE-P comparado a BE (Diferença média = $-1,02$ [IC95% $-1,80$, $-0,25$], $p=0,03$). E mesmo que não significativamente, a potência média e o tempo de pico foi menor em ambas dietas de BDE após os 5 dias de intervenção. Nos modelos exploratórios, a interação entre dieta e gênero não foi significativa em nenhum caso (todos $p>0,05$). A figura 9 apresenta todos esses dados de forma individual, coloridos de acordo com o gênero.

Tabela 8. Dados do teste de Wingate de acordo com as intervenções nutricionais

Características	BE (pré) n= 18	BE (pós) n= 18	BDE (pré) n= 19	BDE (pós) n= 19	BDE-Prot (pré) n = 17	BDE-Prot (pós) n= 17
Potência pico (W)	814 (219)	814 (225)	795 (203)	804 (214)	783 (230)	773 (225)
Potência média (W)	509 (146)	511 (147)	517 (145)	485 (151)	491 (163)	465 (143)
Tempo até o pico	2.87 (1.79)	3.48 (2.55)	3.47 (2.46)	2.47 (1.58)	3.41 (2.16)	3.07 (2.48)
Trabalho total	15.1 (4.4)	15.1 (4.4)	15.3 (4.2)	14.4 (4.4)	14.6 (4.9)	14.0 (4.2)
Taxa relativa de fadiga	0.67 (0.42)	0.67 (0.43)	0.62 (0.43)	0.64 (0.45)	0.62 (0.45)	0.69 (0.48)
Taxa absoluta de fadiga	49 (31)	48 (30)	45 (30)	46 (31)	46 (30)	49 (33)
Inclinação relativa de fadiga	0.77 (0.48)	0.79 (0.51)	0.74 (0.45)	0.80 (0.47)	0.71 (0.39)	0.80 (0.42)
Inclinação absoluta de fadiga	53 (29)	54 (31)	51 (27)	56 (30)	52 (28)	57 (28)

Os dados são média (DP).

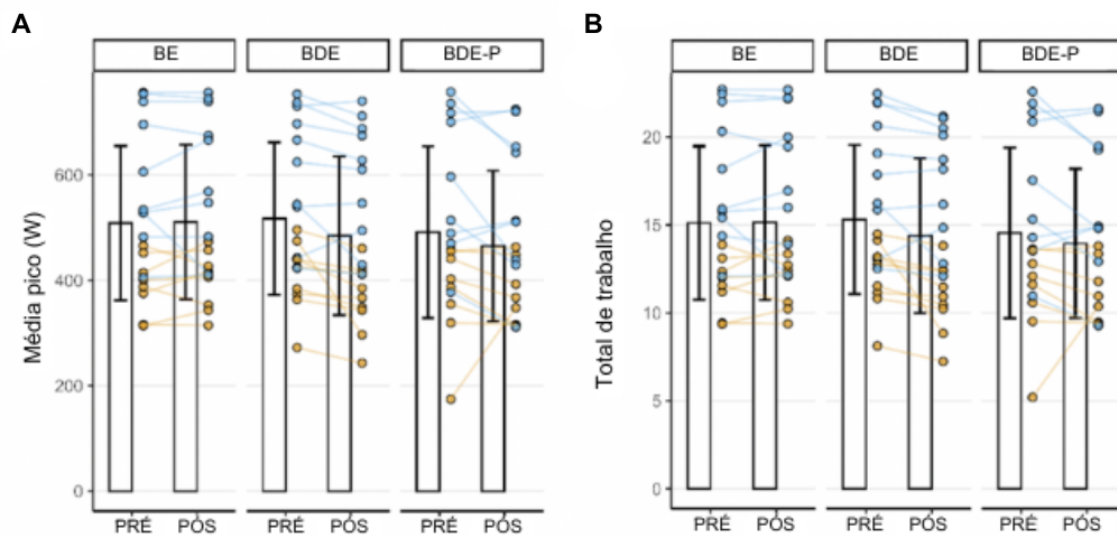


Figura 9. Gráfico de barras mostrando as médias e barras de erro representando os desvios padrão de A) potência média, B) trabalho total realizado. Os pontos representam dados individuais, coloridos de acordo com o gênero, mulheres de amarelo e homens de azul.

7. DISCUSSÃO

O principal objetivo deste estudo foi investigar o efeito da breve exposição às dietas com baixa disponibilidade energética, mas com teores variados em proteína, na resposta metabólica óssea frente à realização de exercício, assim como no metabolismo e desempenho esportivo. Os principais achados são os seguintes: A) A dieta BDE-P mostrou uma tendência a aumentar o biomarcador de reabsorção óssea e a reduzir o biomarcador de formação óssea em comparação às dietas BDE e BE, embora essas diferenças não tenham atingido significância estatística. B) A dieta com BDE pode promover a troca de substrato energético em repouso, favorecendo a maior oxidação de gordura em comparação ao carboidrato, e a maior ingestão de proteína parece não influenciar nessa adaptação. Essa alteração no uso de substratos foi observada apenas em repouso e sem alteração nos mesmos parâmetros durante a realização do exercício; C) A BDE por si só parece não influenciar negativamente no desempenho durante o teste Wingate, mas a BDE com maior teor de proteína (BDE-P) prejudicou a quantidade de trabalho feito. Esse achado se deve à menor disponibilidade de carboidrato e não somente à menor disponibilidade de energia.

7.1 Resposta dos biomarcadores do metabolismo ósseo ao exercício em condição de BDE

A principal hipótese deste estudo era que a dieta de BDE aumentaria a resposta do CTX-1 e reduziria a do P1NP em resposta ao exercício (FENSHAM et al., 2020; HAMMOND et al., 2019; PAPAGEORGIOU et al., 2018b), e que a dieta BDE-P atenuaria esses efeitos, atuando como um mecanismo protetor para os ossos (DOLAN; SALE, 2019; FENSHAM et al., 2020). Contrariamente à essa hipótese original, a maior ingestão de proteína em uma dieta de BDE não protegeu contra danos ao metabolismo ósseo. De fato, os resultados dos biomarcadores ósseos neste estudo indicam uma tendência visual de aumento na resposta do CTX-1 e uma redução na resposta do P1NP na dieta BDE-P em comparação com BE e BDE. Embora essas tendências sejam visivelmente aparentes nas médias (ver figuras 6 e 7), não foi possível confirmar estatisticamente essas mudanças baseado em análises simples de comparação da área sob a curva (AUC). É bem destacado na literatura o potencial de variabilidade dos biomarcadores ósseos, principalmente em resposta ao ritmo circadiano, ingestão de alimentos e exercício (DIEMAR et al., 2022). Além disso,

é importante destacar que, embora os dados sobre jovens saudáveis praticantes de exercícios físicos, mas não atletas, precisam ser expandidos, já existem evidências de variações biológicas intra-individuais semanais significativas nos níveis de CTX (9%) e P1NP (7%) em homens e mulheres adultos. Essas variações referem-se às flutuações naturais nos níveis desses biomarcadores dentro do mesmo indivíduo ao longo de uma semana, em resposta a fatores como ciclos hormonais, estado nutricional, padrões de atividade física, ou até o ritmo circadiano (WANG et al., 2020). No presente estudo, os procedimentos foram padronizados, com as sessões de exercício ocorrendo sempre no mesmo horário para cada voluntário, com início entre 7 e 8 horas da manhã, a fim de minimizar ao máximo a variabilidade dos biomarcadores. No entanto, essa variabilidade ainda pode ter influenciado os resultados observados, e possivelmente contribuído à falta de significativa estatística observada.

Apesar desta falta de diferença significativa, de acordo com as tendências observadas nas figuras 6 e 7, a dieta BDE-P pareceu influenciar negativamente esses desfechos, manifestando como uma redução aparente na taxa de formação óssea (P1NP) e aumento na taxa de reabsorção (CTX-1), em vez de fornecer proteção. Apesar da falta de confirmação significativa, essas tendências estão em concordância com dados emergentes recentemente publicados, que indicam que uma baixa disponibilidade de carboidrato pode ser mais prejudicial para a resposta aguda óssea do que a BDE. Por exemplo, Fensham et al. (2022), que mostraram um aumento do marcador de reabsorção óssea (CTX-1) quando o exercício foi realizado após uma dieta BDE (10-25 kcal/kg MLG/dia, ~330g de carboidrato por dia) ou uma dieta LCHF isoenergética (35-45 kcal/kg MLG/dia, ~50g de carboidrato por dia) por 6 dias, e uma redução do marcador de formação óssea (P1NP) durante o exercício apenas na dieta LCHF, em marchadores de elite masculinos. Além disso, Hammond et al. (2019) relataram um aumento do CTX-1 e nenhuma alteração do P1NP após o exercício de HIIT (85% do VO_2 pico) quando houve restrição de carboidrato em uma dieta isocalórica (~3g de carboidrato e 60kcal/kg de MLG) por 4,5 horas, em comparação com uma dieta isocalórica, mas rica em carboidratos. Sale et al. (2015) demonstraram que a ingestão de uma solução de carboidrato a 8% durante um exercício de corrida de 120 minutos em esteira a 70% do VO_{2max} , e continuada por mais 2 horas após o exercício, foi capaz de atenuar imediatamente as respostas de CTX e P1NP em

comparação ao placebo, sugerindo um efeito agudo dos carboidratos na renovação óssea. Portanto, tanto os dados citados quanto as tendências observadas no presente estudo sugerem que a baixa disponibilidade de carboidratos pode ser mais prejudicial para o metabolismo ósseo durante o exercício prolongado do que a falta de energia por si só.

7.2 Resposta do metabolismo energético ao exercício em condição de BDE

As medições das trocas gasosas respiratórias indicaram um aumento nas taxas de oxidação de gordura corporal total e uma redução concomitante na utilização de carboidratos em jejum após 4 dias das dietas BDE e BDE-P. Esse efeito é provavelmente uma adaptação do organismo para poupar carboidratos durante o repouso, em um contexto de baixa disponibilidade de carboidratos (BDE: $\sim 1,7$ g/kg/dia e BDE-P: $\sim 0,9-1,19$ g/kg/dia), resultando em níveis reduzidos de glicogênio muscular e menores concentrações plasmáticas de glicose (STELLINGWERFF et al., 2006). Esse achado claramente demonstra uma alteração do metabolismo frente à BDE. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as condições de BDE e BDE-P, devido que o teor de carboidrato ficou bem mais baixo nessas condições, indicando que a redução de energia, em vez de redução do carboidrato em si, ficou mais influente nessa resposta.

No entanto, durante o exercício, não foram observadas diferenças significativas na troca de substratos energéticos, o que sugere que as reservas endógenas de carboidratos foram suficientes para manter as concentrações plasmáticas de glicose e suprir as necessidades energéticas do músculo, mesmo com a baixa ingestão de carboidratos. O exercício pode ter incentivado a contínua alocação de energia para a utilização dos substratos disponíveis durante o esforço físico. Entretanto, em repouso, essa necessidade imediata de energia é reduzida, levando o organismo a conservar os carboidratos disponíveis e a aumentar a oxidação de gorduras como uma estratégia para preservar as reservas de glicogênio. É possível que o tempo de exposição à dieta BDE pode não ter sido suficiente para induzir uma adaptação metabólica significativa que alterasse as taxas de oxidação de substratos durante o exercício. Estudos sugerem que o pico de oxidação de gordura durante o exercício submáximo pode ocorrer entre 5 a 10 dias após o início de uma dieta rica em gordura

e baixa em carboidratos (GOEDECKE et al., 1999). Há uma lacuna na literatura quanto à mudança do metabolismo energético durante o exercício após dietas restritivas, sendo a maior parte das evidências baseada em estudos com dietas LCHF e adaptação do metabolismo oxidativo. Por exemplo, Stepto et al. (2002) mostrou que 5 dias de uma dieta isocalórica com baixo teor de carboidratos (20% da energia) e alta em gordura (65% da energia) em ciclistas bem treinados resultou em maiores taxas de oxidação de gordura durante treinos a 85% e 65% do $VO_{2\text{pico}}$ (treinamento consistindo em aquecimento de 20 minutos a 65% do $VO_{2\text{pico}}$; 232 ± 23 W), seguido imediatamente por 8 séries de 5 minutos de trabalho a $86 \pm 2\%$ do $VO_{2\text{pico}}$ (323 ± 32 W; com 60 segundos de recuperação). Burke et al. (2020) demonstrou que 25 dias de baixa disponibilidade de carboidratos ($\sim 0,5\text{g/kg/dia}$) dobraram a oxidação de gordura em alta intensidade de exercício (de $0,59 \pm 0,22$ para $1,26 \pm 0,20$ g/min a uma velocidade próxima ao ritmo de corrida de 50 km) em atletas de resistência de elite.

Sabe-se que atletas de resistência têm uma capacidade superior de oxidação de gordura em comparação a indivíduos menos treinados ou sedentários, devido ao histórico de treinamento e, possivelmente, a fatores genéticos (MAUNDER; PLEWS; KILDING, 2018). No entanto, os participantes deste estudo eram praticantes recreacionais de exercícios, sem características específicas que predisponham a maior oxidação de gordura. Com base nesses dados, é possível que um tempo maior de exposição à BDE e/ou à baixa disponibilidade de carboidratos possa exacerbar as respostas do metabolismo energético durante o exercício.

Apesar dessa falta de mudança no metabolismo ou uso de substratos durante o exercício, vale considerar que os participantes homens relataram uma maior percepção subjetiva de esforço após as dietas de BDE e BDE-P em comparação do BE.

Esse estudo ainda mostrou que nenhuma mudança significativa da TMR foi observada, mesmo em condições de BDE. Somente a utilização dos substratos sofreu adaptação, sem alterar a quantidade de energia total utilizada. Isso é consistente com dados que indicam que homens saudáveis em BDE não apresentam a TMR mais baixa e, portanto, a TMR não pode ser utilizada como medida de avaliação da disponibilidade energética subótima (TORSTVEIT et al., 2018).

7.3 Efeito da BDE no desempenho de *Wingate*

A queda no desempenho foi observada exclusivamente na dieta BDE-P, com uma redução significativa na potência média (diferença média = -40,80W, $p=0,015$) e no trabalho total (diferença média = -1,02, $p=0,03$) em comparação à dieta BE. A dieta BDE-P, que apresentou o menor teor de carboidratos (BDE-P: ~1g/kg/dia de carboidrato; BDE: ~1,7g/kg/dia; BE: ~5,5g/kg/dia), provavelmente contribuiu para essa diminuição no desempenho. Embora existam poucos estudos avaliando a influência da BDE no desempenho esportivo, é amplamente reconhecido que o fornecimento adequado de energia é fundamental para otimizar a performance atlética (WASSERFURTH et al., 2020). Alterações no desempenho relacionadas à BDE foram relatadas por Ackerman et al. (2019b), que, através de questionários, identificaram uma diminuição frequente na resposta ao treinamento, redução na coordenação, irritabilidade, depressão e queda no desempenho de resistência. No entanto, os dados do presente estudo sugerem que a baixa disponibilidade de carboidratos teve um impacto mais negativo no desempenho esportivo do que a simples redução na disponibilidade energética. A literatura já destaca que a depleção de glicogênio é uma causa comum de queda no desempenho esportivo (MAUGHAN; POOLE, 1981; STELLINGWERFF; MAUGHAN; BURKE, 2011). Os carboidratos são os principais substratos energéticos utilizados durante exercícios que excedem 65% do VO_2 máximo, desempenhando um papel crucial na fosforilação oxidativa para a produção de energia. No entanto, em situações de alta demanda de ATP, a fosforilação oxidativa sozinha não é suficiente para atender à taxa de hidrólise de ATP, sendo necessária a ativação das vias fosfogênicas e glicólise, o que resulta na formação de lactato (STELLINGWERFF; MAUGHAN; BURKE, 2011). Quando a disponibilidade de carboidratos é baixa e os estoques de glicogênio muscular estão reduzidos, o corpo pode recorrer a outras fontes de energia, como gorduras e, em casos mais extremos, aminoácidos (Burke et al., 2011). No entanto, essas vias são menos eficientes na produção de ATP, o que pode levar à diminuição do desempenho esportivo e ao aumento da produção de lactato (HARGREAVES; SPRIET, 2020; PETERSEN; SHULMAN, 2006).

Um estudo de Burke et al. (2017) observou que uma dieta LCHF aumentou a oxidação de gordura em comparação com a oxidação de carboidratos em atletas de elite submetidos a essa dieta por 3 semanas. Contudo, a melhora no desempenho

esportivo foi alcançada com uma dieta de alta disponibilidade de carboidratos, e não com a LCHF. Embora o presente estudo não tenha avaliado os níveis de lactato durante o exercício, o que poderia fornecer mais informações sobre a utilização da glicose como fonte de energia e uma melhor compreensão da queda no desempenho, estudos como o de Jurov et al. (2022) indicam que os níveis de lactato tendem a diminuir após 14 dias de BDE (22 ± 6 kcal/kg MLG/dia) em atletas de endurance do gênero masculino, provavelmente devido à menor disponibilidade de carboidratos e glicogênio muscular, o que também refletiu na redução da potência muscular desses atletas.

7.4 Limitações

Este é o primeiro estudo a investigar o impacto da ingestão de alto teor de proteína em resposta ao exercício combinado com BDE. O rigoroso controle da dieta e do exercício, juntamente com a padronização dos protocolos aplicados, foram pontos fortes aplicados para minimizar a variabilidade dentro dos parâmetros controláveis. A relevância deste estudo reside na possibilidade de extrapolar as alterações nos biomarcadores ósseos circulantes para as implicações de estrutura e função óssea a longo prazo em atletas expostos à BDE. Embora seja limitado por não esclarecer totalmente como as mudanças nos biomarcadores se refletem na estrutura óssea, esses indicadores fornecem sinais valiosos sobre a qualidade óssea (WU et al., 2021) e representam uma ferramenta acessível para avaliação a curto prazo.

Mais investigações são necessárias para compreender como as modulações agudas na resposta dos biomarcadores ao exercício e à dieta podem traduzir-se em prejuízos ósseos a longo prazo. Embora os efeitos sobre a saúde óssea mereçam mais estudos, o presente trabalho apoia a hipótese de que dietas com deficiência energética a curto prazo, mas que garantem a ingestão adequada de carboidratos, podem ser mais benéficas para atletas que frequentemente ajustam suas dietas ao longo da temporada.

Outro ponto forte deste estudo foi a inclusão de participantes de ambos os gêneros. Apenas um estudo anterior comparou a resposta de homens e mulheres à BDE e ao exercício (PAPAGEORGIU et al., 2017), sem encontrar diferenças significativas. Embora as evidências sobre REDs sejam escassas, a maioria dos

estudos até agora tem se concentrado em mulheres, dado que elas são consideradas mais suscetíveis aos efeitos negativos da BDE. Portanto, este estudo contribui para a ampliação da base de evidências sobre as diferentes respostas de homens e mulheres à BDE, tanto em termos de desempenho quanto de metabolismo durante o exercício.

O tempo de intervenção da BDE pode ser considerado um fator limitante deste estudo. A escolha de uma intervenção de 4 dias foi baseada em estudos anteriores que utilizaram esse mesmo período e observaram mudanças significativas nos biomarcadores do metabolismo ósseo (IHLE; LOUCKS, 2004a; PAPAGEORGIOU et al., 2018b). No entanto, é possível que um período mais longo de intervenção nutricional pudesse resultar em mudanças mais pronunciadas. Ainda assim, é importante considerar que a aplicabilidade de uma dieta estritamente controlada e altamente restritiva apresenta desafios substanciais. Muitos participantes relataram desconforto, alterações de humor, irritabilidade, entre outros sintomas que afetaram sua rotina diária. Dois participantes, inclusive, completaram apenas duas das três condições devido à dificuldade de adesão. Portanto, o tempo de intervenção escolhido, apesar de baseado em evidências anteriores, foi o mais realista para a população estudada.

Vale destacar que foi solicitado a cada participante o preenchimento de um recordatório alimentar de três dias, com o objetivo de determinar a disponibilidade energética habitual e ajustar a dieta de intervenção de acordo com os gostos pessoais e hábitos alimentares de cada um. A média de ingestão energética observada foi inferior ao balanço energético esperado, sugerindo que os participantes já estavam em um estado de restrição calórica. No entanto, é importante considerar dois pontos críticos: Primeiro, o recordatório alimentar habitual pode estar sujeito a subrelatos voluntários ou ser influenciado por falhas de memória, o que pode comprometer a precisão dos dados coletados (MARA FISBERG; MARIA LOBO MARCHIONI; CAROLINA ALMADA COLUCCI, 2009). Além disso, como critério de inclusão no estudo, foi perguntado aos voluntários sobre qualquer perda de peso recente ou a realização de dietas restritivas nos últimos seis meses. Todos os participantes negaram essas práticas, o que reforça a ponto que os resultados aqui provavelmente indicam um subestima de ingestão habitual e justifica sua inclusão no estudo.

8. CONCLUSÃO

A breve exposição a dietas com baixa disponibilidade energética, mas com teores variados de proteína, não protegeu contra danos ao metabolismo ósseo e ao desempenho esportivo. De fato, os resultados indicaram uma tendência visual para um maior aumento de CTX-1 e redução de P1NP na condição de BDE-P, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Essa tendência, em combinação com evidências emergentes da literatura, sugere que esse efeito adverso pode estar relacionado à baixa disponibilidade de carboidratos, mas mais pesquisas são necessárias para confirmar essa hipótese.

Ambas as dietas com BDE influenciaram o uso de substratos durante o repouso, aumentando a taxa de oxidação de gordura e reduzindo a contribuição dos carboidratos. Além disso, a baixa disponibilidade energética com alto teor de proteína foi capaz de reduzir o desempenho esportivo em comparação à dieta de baixa disponibilidade energética, mas com teores igualmente distribuídos de macronutrientes ou com a dieta de balanço energético. Contudo, sugere-se que uma dieta com energia e carboidratos adequados possa apoiar o treinamento e prevenir desequilíbrios desfavoráveis ao metabolismo energético. Mais pesquisas são necessárias para entender melhor as consequências da BDE em várias condições, tanto no metabolismo ósseo quanto no desempenho esportivo.

9. ATIVIDADES ACADÊMICAS

OLIVEIRA-JUNIOR G; SILVÉRIO, R; SHIRLEY M; LONGMAN D; KOEHLER K; SAUNDERS B; ROSCHEL H; DOLAN E. The Skeletal Muscle Response to Energy

Deficiency: A Life History Perspective. Adaptive Human Behavior and Physiology, 2022. DOI: 10.1007/S40750-021-00182-4

PEDROSO, JOÃO A.B. ; CAMPOREZ, JOÃO PAULO ; BELPIEDE, LUCIANA T. ; **PINTO, RAFAELA S.** ; CIPOLLA-NETO, JOSÉ ; JOSE, DONATO . Evaluation of Hepatic Steatosis in Rodents by Time-Domain Nuclear Magnetic Resonance. Diagnostics, v. 9, p. 198, 2019.

Artigos em desenvolvimento:

SILVÉRIO, R; REZENDE, NR; ESTEVES, G; DUMAS, A; AGUERA, BR; PERFEITA, L; DAVID, A; DOLAN, E. REDs: da identificação à conduta para saúde e performance (em preparação para submissão).

Apresentação de Trabalho/Congresso:

SILVÉRIO, R; REGO, L. N. ; COSTA, B. D. ; CAVASSANA, V. M. . Impacto da Obesidade no Desenvolvimento da Esteatose Hepática. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

SILVÉRIO, R; BELPIEDE, L. T. Influência da Melatonina no Controle da Obesidade e Esteatose Hepática. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Ministrou e participou da organização do XVII Curso de Verão da USP – Praticando e Discutindo Fisiologia

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHTEN, J.; JEUKENDRUP, A. E. Maximal Fat Oxidation During Exercise in Trained Men. *International Journal of Sports Medicine*, v. 24, n. 8, p. 603–608, nov. 2003.

ACKERMAN, K. E. et al. Low energy availability surrogates correlate with health and performance consequences of Relative Energy Deficiency in Sport. *British Journal of Sports Medicine*, v. 53, n. 10, p. 628–633, maio 2019a.

ACKERMAN, K. E. et al. Low energy availability surrogates correlate with health and performance consequences of Relative Energy Deficiency in Sport. *British Journal of Sports Medicine*, v. 53, n. 10, p. 628–633, maio 2019b.

ALLEN, M. *The SAGE Encyclopedia of Communication Research Methods*. 2455 Teller Road, Thousand Oaks California 91320 : SAGE Publications, Inc, 2017.

ALLEN, M. R.; BURR, D. B. Bone Modeling and Remodeling. Em: *Basic and Applied Bone Biology*. [s.l.] Elsevier Inc., 2013. p. 75–90.

ARETA, J. L. et al. Reduced resting skeletal muscle protein synthesis is rescued by resistance exercise and protein ingestion following short-term energy deficit. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 306, p. 989–997, 2014.

ARETA, J. L. Physical performance during energy deficiency in humans: An evolutionary perspective. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology*, v. 284, 1 out. 2023.

ATHERTON, P. J. et al. Distinct anabolic signalling responses to amino acids in C2C12 skeletal muscle cells. *Amino Acids*, v. 38, n. 5, p. 1533–1539, maio 2010.

BABRAJ, J. A. et al. Human bone collagen synthesis is a rapid, nutritionally modulated process. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 20, n. 6, p. 930–937, jun. 2005.

BARRACK, M. T. et al. Higher Incidence of Bone Stress Injuries With Increasing Female Athlete Triad–Related Risk Factors. *The American Journal of Sports Medicine*, v. 42, n. 4, p. 949–958, 24 abr. 2014.

BECK, B. R. et al. Exercise and Sports Science Australia (ESSA) position statement on exercise prescription for the prevention and management of osteoporosis. *Journal of Science and Medicine in Sport* Elsevier Ltd, , 1 maio 2017.

BOLTON, J. G. F. et al. A prospective study of changes in bone turnover and bone density associated with regaining weight in women with anorexia nervosa. *Osteoporosis International*, v. 16, n. 12, p. 1955–1962, dez. 2005.

BURKE, L. M. et al. Carbohydrates for training and competition. *Journal of Sports Sciences*, v. 29, n. sup1, p. S17–S27, 9 jan. 2011.

BURKE, L. M. et al. Low carbohydrate, high fat diet impairs exercise economy and negates the performance benefit from intensified training in elite race walkers. *Journal of Physiology*, v. 595, n. 9, p. 2785–2807, 1 maio 2017.

BURKE, L. M. et al. Relative energy deficiency in sport in male athletes: A commentary on its presentation among selected groups of male athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* Human Kinetics Publishers Inc., , 1 jul. 2018.

BURKE, L. M. et al. Crisis of confidence averted: Impairment of exercise economy and performance in elite race walkers by ketogenic low carbohydrate, high fat (LCHF) diet is reproducible. *PLOS ONE*, v. 15, n. 6, p. e0234027, 4 jun. 2020.

BURKE, L. M. et al. Adaptation to a low carbohydrate high fat diet is rapid but impairs endurance exercise metabolism and performance despite enhanced glycogen availability. *The Journal of Physiology*, v. 599, n. 3, p. 771–790, 19 fev. 2021.

CAMPION, F. et al. Bone status in professional cyclists. *International Journal of Sports Medicine*, v. 31, n. 7, p. 511–515, 2010.

CARBONE, J. W. et al. Effects of short-term energy deficit on muscle protein breakdown and intramuscular proteolysis in normal-weight young adults. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, v. 39, n. 8, p. 960–968, 2014.

CARBONE, J. W.; MCCLUNG, J. P.; PASIAKOS, S. M. Recent Advances in the Characterization of Skeletal Muscle and Whole-Body Protein Responses to Dietary Protein and Exercise during Negative Energy Balance. *Advances in Nutrition* Oxford University Press, , 1 jan. 2019.

CLOWES, J. A. et al. Effect of Feeding on Bone Turnover Markers and Its Impact on Biological Variability of Measurements. [s.l: s.n.].

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição. 4a ed ed. Barueri: Manole, 2020.

DE SOUZA, M. J. et al. The presence of both an energy deficiency and estrogen deficiency exacerbate alterations of bone metabolism in exercising women. *Bone*, v. 43, n. 1, p. 140–148, jul. 2008.

DE SOUZA, M. J. et al. Current Status of the Female Athlete Triad: Update and Future Directions. *Current Osteoporosis Reports* Current Medicine Group LLC 1, , 1 dez. 2017.

DEIGHTON, K.; STENSEL, D. J. Creating an acute energy deficit without stimulating compensatory increases in appetite: Is there an optimal exercise protocol? *Proceedings of the Nutrition Society. Anais...* Cambridge University Press, 2014.

DIEMAR, S. S. et al. A Systematic Review of the Circadian Rhythm of Bone Markers in Blood. *Calcified Tissue International*, v. 112, n. 2, p. 126–147, 19 mar. 2022.

DOLAN, E. et al. The Bone Metabolic Response to Exercise and Nutrition. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, v. 48, n. 2, p. 49–58, abr. 2020.

DOLAN E et al. The Bone Biomarker Response to an Acute Bout of Exercise: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Syst Rev*. 2020;9:291., 2022.

DOLAN, E. et al. The Influence of Nutrition Intervention on the P1NP and CTX-1 Response to an Acute Exercise Bout: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Sports Medicine*, 13 ago. 2024.

DOLAN, E.; SALE, C. Protein and bone health across the lifespan. *Proceedings of the Nutrition Society. Anais...Cambridge University Press*, 1 fev. 2019.

E SCHOENAU. From mechanostat theory to development of the “Functional Muscle-Bone-Unit”. [s.l: s.n.].

FARIBA, Z. K. (et al. *Human Nutrition and Metabolism*J. Nutr. [s.l: s.n.].

FENSHAM, N. C. et al. Short-Term Carbohydrate Restriction Impairs Bone Formation at Rest and During Prolonged Exercise to a Greater Degree than Low Energy Availability. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 37, n. 10, p. 1915–1925, 1 dez. 2020.

GASTIN, P. B. Energy System Interaction and Relative Contribution During Maximal. 10. ed. [s.l.] *Sports Medicine*, 2001. v. v. 31

GIBBS, J. C.; WILLIAMS, N. I.; DE SOUZA, M. J. Prevalence of individual and combined components of the female athlete triad. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, maio 2013.

GOEDECKE, J. H. et al. Metabolic adaptations to a high-fat diet in endurance cyclists. *Metabolism*, v. 48, n. 12, p. 1509–1517, dez. 1999.

HAMMOND, K. M. et al. Post-exercise carbohydrate and energy availability induce independent effects on skeletal muscle cell signalling and bone turnover: implications for training adaptation. *Journal of Physiology*, v. 597, n. 18, p. 4779–4796, 1 set. 2019.

HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nature Metabolism*, v. 2, n. 9, p. 817–828, 3 ago. 2020.

HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. *Exercise Metabolism*. 2nd Edition ed. [s.l.] Human Kinetics, 2021.

HEIKURA, I. A. et al. Low Energy Availability Is Difficult to Assess but Outcomes Have Large Impact on Bone Injury Rates in Elite Distance Athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v. 28, n. 4, p. 403–411, 1 jul. 2018.

HELMS, E. R. et al. A systematic review of dietary protein during caloric restriction in resistance trained lean athletes: A case for higher intakes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* Human Kinetics Publishers Inc., , 2014.

HODSON, N. et al. Molecular regulation of human skeletal muscle protein synthesis in response to exercise and nutrients: a compass for overcoming age-related anabolic resistance. *Am J Physiol Cell Physiol*, v. 317, p. 1061–1078, 2019.

IHLE, R.; LOUCKS, A. B. Dose-response relationships between energy availability and bone turnover in young exercising women. *Journal of Bone and Mineral Research*. Anais...ago. 2004a.

IHLE, R.; LOUCKS, A. B. Dose-response relationships between energy availability and bone turnover in young exercising women. *Journal of Bone and Mineral Research*. Anais...ago. 2004b.

JÄGER, R. et al. International Society of Sports Nutrition Position Stand: Protein and exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* BioMed Central Ltd., , 20 jun. 2017.

JOSSE, A. R. et al. Increased consumption of dairy foods and protein during diet- and exercise-induced weight loss promotes fat mass loss and lean mass gain in overweight and obese premenopausal women. *Journal of Nutrition*, v. 141, n. 9, p. 1626–1634, 1 set. 2011.

JUROV, I.; KEAY, N.; RAUTER, S. Reducing energy availability in male endurance athletes: a randomized trial with a three-step energy reduction. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 19, n. 1, p. 179–195, 2022.

K YEAGER et al. The female athlete triad: disordered eating, amenorrhea, osteoporosis. *Med Sci Sports Exerc* ., 1993.

KAWAI, M.; ROSEN, C. J. The Insulin-Like Growth Factor System in Bone. Basic and Clinical Implications. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, jun. 2012.

KERSTETTER, J. E.; ALLEN, L. H. Protein Intake and Calcium Homeostasis. *Adv Nutr Res* ., 1994.

KERSTETTER JANE et al. The impact of dietary protein on calcium absorption and kinetic measures of bone turnover in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005.

KIM, J. E. et al. Effects of dietary protein intake on body composition changes after weight loss in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews* Oxford University Press, , 1 mar. 2016.

KIM, J.; LEE, J. The many faces of the creatine/phosphocreatine system. *Nature Metabolism*, v. 4, n. 2, p. 155–156, 15 fev. 2022.

KOEHLER, K. et al. Low energy availability in exercising men is associated with reduced leptin and insulin but not with changes in other metabolic hormones. *Journal of Sports Sciences*, v. 34, n. 20, p. 1921–1929, 17 out. 2016.

KOVRT, W. M. et al. Physical activity and bone health. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 36, n. 11, p. 1985–1996, nov. 2004.

KOVRT, W. M.; BARRY, D. W.; SCHWARTZ, R. S. Muscle forces or gravity: What predominates mechanical loading on bone? *Medicine and Science in Sports and Exercise*, nov. 2009.

KUIKMAN, M. A. et al. A Review of Nonpharmacological Strategies in the Treatment of Relative Energy Deficiency in Sport. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v. 31, n. 3, p. 268–275, 1 maio 2021.

LANGDAHL, B.; FERRARI, S.; DEMPSTER, D. W. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease* SAGE Publications Ltd, , 1 dez. 2016.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 6th ed. ed. New York: [s.n.].

LODGE, M. T.; WARD-RITACCO, C. L.; MELANSON, K. J. Considerations of Low Carbohydrate Availability (LCA) to Relative Energy Deficiency in Sport (RED-S) in Female Endurance Athletes: A Narrative Review. *Nutrients*, v. 15, n. 20, p. 4457, 20 out. 2023.

LONGLAND, T. M. et al. Higher compared with lower dietary protein during an energy deficit combined with intense exercise promotes greater lean mass gain and fat mass loss: A randomized trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 103, n. 3, p. 738–746, 1 mar. 2016.

LOUCKS, A. B. Energy balance and body composition in sports and exercise. *Journal of Sports Sciences. Anais...*jan. 2004.

LOUCKS, A. B. Low Energy Availability in the Marathon and Other Endurance Sports. *Sports Med.* [s.l: s.n.].

LOUCKS, A. B.; KIENS, B.; WRIGHT, H. H. Energy availability in athletes. *Journal of Sports Sciences*, jan. 2011.

LOUCKS, A. B.; THUMA, J. R. Luteinizing hormone pulsatility is disrupted at a threshold of energy availability in regularly menstruating women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 88, n. 1, p. 297–311, 1 jan. 2003.

LUIZ DA SILVA, A.; DAL FARRA MIRANDA, G.; LIBERALI, R. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva A INFLUÊNCIA DOS CARBOIDRATOS ANTES, DURANTE E APÓS-TREINOS DE ALTA INTENSIDADE.* p. 211–224, 2008.

MARA FISBERG, R.; MARIA LOBO MARCHIONI, D.; CAROLINA ALMADA COLUCCI, A. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. *Assessment of food consumption and nutrient intake in clinical practice* Arq Bras Endocrinol Metab. [s.l: s.n.].

MAUGHAN, R. J.; POOLE, D. C. The effects of a glycogen-loading regimen on the capacity to perform anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, v. 46, n. 3, p. 211–219, jun. 1981.

MAUNDER, E.; PLEWS, D. J.; KILDING, A. E. Contextualising Maximal Fat Oxidation During Exercise: Determinants and Normative Values. *Frontiers in Physiology*, v. 9, 23 maio 2018.

MELIN, A. et al. Energy availability and the female athlete triad in elite endurance athletes. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, v. 25, n. 5, p. 610–622, 1 out. 2015.

MELIN, A. K. et al. Energy Availability in Athletics: Health, Performance, and Physique. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v. 29, n. 2, p. 152–164, 1 mar. 2019.

MELIN, A. K. et al. Direct and indirect impact of low energy availability on sports performance. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, v. 34, n. 1, 9 jan. 2024.

METTLER, S.; MITCHELL, N.; TIPTON, K. D. Increased Protein Intake Reduces Lean Body Mass Loss during Weight Loss in Athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 42, n. 2, p. 326–337, fev. 2010.

MISRA, M. et al. Bone metabolism in adolescent boys with anorexia nervosa. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 93, n. 8, p. 3029–3036, 2008.

MOJOCK, C. D. et al. Comparisons of Bone Mineral Density Between Recreational and Trained Male Road Cyclists. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.cjsportmed.com>.

MOLE, P. A. Impact of Energy Intake and Exercise on Resting Metabolic Rate. [s.l: s.n.].

MOUNTJOY, M. et al. The IOC consensus statement: Beyond the Female Athlete Triad-Relative Energy Deficiency in Sport (RED-S). *British Journal of Sports Medicine*, v. 48, n. 7, p. 491–497, 2014.

MOUNTJOY, M. et al. IOC consensus statement on relative energy deficiency in sport (RED-S): 2018 update. *British Journal of Sports Medicine*, v. 52, n. 11, p. 687–697, 2018.

MOUNTJOY, M. et al. 2023 International Olympic Committee's (IOC) consensus statement on Relative Energy Deficiency in Sport (REDs). *British Journal of Sports Medicine*, v. 57, n. 17, p. 1073–1097, 1 set. 2023.

MURPHY, C. H. et al. Hypoenergetic diet-induced reductions in myofibrillar protein synthesis are restored with resistance training and balanced daily protein ingestion in older men. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, v. 308, n. 9, p. E734–E743, 2015.

NATTIV, A. et al. The female athlete triad. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 39, n. 10, p. 1867–1882, out. 2007.

NATTIV, A. et al. The Male Athlete Triad-A Consensus Statement From the Female and Male Athlete Triad Coalition Part 1: Definition and Scientific Basis. *Clinical journal of sport medicine : official journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, v. 31, n. 4, p. 335–348, 1 jul. 2021.

NOAKES, T. D. et al. Low carbohydrate high fat ketogenic diets on the exercise crossover point and glucose homeostasis. *Frontiers in Physiology*, v. 14, 28 mar. 2023.

PAPAGEORGIU, M. et al. Effects of reduced energy availability on bone metabolism in women and men. *Bone*, v. 105, p. 191–199, 1 dez. 2017.

PAPAGEORGIU, M. et al. Reduced energy availability: implications for bone health in physically active populations. *European Journal of Nutrition* Dr. Dietrich Steinkopff Verlag GmbH and Co. KG, , 1 abr. 2018a.

PAPAGEORGIU, M. et al. Bone metabolic responses to low energy availability achieved by diet or exercise in active eumenorrheic women. *Bone*, v. 114, p. 181–188, 1 set. 2018b.

PAPAGEORGIU, M. et al. Bone metabolic responses to low energy availability achieved by diet or exercise in active eumenorrheic women. *Bone*, v. 114, p. 181–188, 1 set. 2018c.

PERIC, R.; MEUCCI, M.; NIKOLOVSKI, Z. Fat Utilization During High-Intensity Exercise: When Does It End? *Sports Medicine - Open*, v. 2, n. 1, p. 35, 31 dez. 2016.

PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. New Insights into the Pathogenesis of Insulin Resistance in Humans Using Magnetic Resonance Spectroscopy. *Obesity*, v. 14, n. S2, 6 fev. 2006.

PHILIP J. PRINS et al. High Rates of Fat Oxidation Induced by a Low-Carbohydrate, High-Fat Diet, Do Not Impair 5-km Running Performance in Competitive Recreational Athletes. *Journal of Sports Science and Medicine*, v. 18, n. 738–750, jun. 2019.

PHILLIPS, S. M.; CHEVALIER, S.; LEIDY, H. J. Protein “requirements” beyond the RDA: implications for optimizing health. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* Downloaded from www.nrcresearchpress.com by San Diego. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.nrcresearchpress.com>.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. *Exercise Physiology: Theory and Application to Fitness and Performance*. 10th ed ed. New York: McGraw-Hill Education, 2017.

RIZZOLI, R. et al. Benefits and safety of dietary protein for bone health—an expert consensus paper endorsed by the European Society for Clinical and Economical Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis, and Musculoskeletal Diseases and by the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporosis International* Springer London, , 1 set. 2018.

ROCHE, M. et al. Higher Triad Risk Scores Are Associated With Increased Risk for Trabecular-Rich Bone Stress Injuries in Female Runners. *Clinical Journal of Sport Medicine*, v. 33, n. 6, p. 631–637, nov. 2023.

SALE, C. et al. Effect of carbohydrate feeding on the bone metabolic response to running. *Journal of Applied Physiology*, v. 119, n. 7, p. 824–830, 2015.

SALE, C.; ELLIOTT-SALE, K. J. *Nutrition and Athlete Bone Health*. Sports Medicine Springer, , 1 dez. 2019.

SCHUBERT, M. M. et al. Acute exercise and hormones related to appetite regulation: A meta-analysis. *Sports Medicine*, mar. 2014.

SCHWARTZ, J. et al. Translation, Cultural Adaptation, and Reproducibility of the Physical Activity Readiness Questionnaire for Everyone (PAR-Q+): The Brazilian Portuguese Version. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, v. 8, 26 jul. 2021.

SHAMS-WHITE, M. M. et al. Dietary protein and bone health: A systematic review and meta-analysis from the National Osteoporosis Foundation. *American Journal of Clinical Nutrition* American Society for Nutrition, , 1 jun. 2017.

SHIRLEY, M. K. et al. A Life History Perspective on Athletes with Low Energy Availability. *Sports Medicine*, v. 52, n. 6, p. 1223–1234, 3 jun. 2022.

STELLINGWERFF, T. et al. Decreased PDH activation and glycogenolysis during exercise following fat adaptation with carbohydrate restoration. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 290, n. 2, p. E380–E388, fev. 2006.

STELLINGWERFF, T.; COX, G. R. Systematic review: Carbohydrate supplementation on exercise performance or capacity of varying durations. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, v. 39, n. 9, p. 998–1011, set. 2014.

STELLINGWERFF, T.; MAUGHAN, R. J.; BURKE, L. M. Nutrition for power sports: Middle-distance running, track cycling, rowing, canoeing/kayaking, and swimming. *Journal of Sports Sciences*, v. 29, n. SUPPL. 1, jan. 2011.

STELLINGWERFF, T.; MORTON, J. P.; BURKE, L. M. A Framework for Periodized Nutrition for Athletics. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v. 29, n. 2, p. 141–151, 1 mar. 2019.

STEPTO, N. K. et al. Effect of short-term fat adaptation on high-intensity training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 34, n. 3, p. 449–455, mar. 2002.

TALBOTT, S. M.; SHAPSES, S. A. Fasting and Energy Intake Influence Bone Turnover in Lightweight Male Rowers. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 1998.

THISSEN, J.-P.; KETELSLEGERS, J.-M.; UNDERWOOD, L. E. Nutritional Regulation of the Insulin-Like Growth Factors. [s.l: s.n.].

TORSTVEIT, M. K. et al. Within-Day Energy Deficiency and Metabolic Perturbation in Male Endurance Athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v. 28, n. 4, p. 419–427, 1 jul. 2018.

TOWNSEND, R. et al. The Effect of Post-Exercise Carbohydrate and Protein Ingestion on Bone Metabolism 1 2. [s.l: s.n.].

TRAYLOR, D. A.; GORISSEN, S. H. M.; PHILLIPS, S. M. Perspective: Protein requirements and optimal intakes in aging: Are we ready to recommend more than the recommended daily allowance? *Advances in Nutrition* Oxford University Press, , 1 maio 2018.

VASIKARAN, S. et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: A need for international reference standards. *Osteoporosis International*, v. 22, n. 2, p. 391–420, fev. 2011.

VOGT, S. et al. Energy intake and energy expenditure of elite cyclists during preseason training. *International Journal of Sports Medicine*, v. 26, n. 8, p. 701–706, out. 2005.

VOLEK, J. S. et al. Metabolic characteristics of keto-adapted ultra-endurance runners. *Metabolism*, v. 65, n. 3, p. 100–110, mar. 2016.

VUORI, I. M. Dose-response of physical activity and low back pain, osteoarthritis, and osteoporosis *Med. Sci. Sports Exerc.* [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.acsm-msse.org>>.

WANG, S. et al. Biological variation in serum bone turnover markers. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, v. 57, n. 2, p. 144–150, 8 mar. 2020.

WASSERFURTH, P. et al. Reasons for and Consequences of Low Energy Availability in Female and Male Athletes: Social Environment, Adaptations, and Prevention. *Sports Medicine - Open*, v. 6, n. 1, p. 44, 10 dez. 2020.

WEAVER, C. M. et al. The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteoporosis International*, v. 27, n. 4, p. 1281–1386, 1 abr. 2016.

WOODS, A. L. et al. New approaches to determine fatigue in elite athletes during intensified training: Resting metabolic rate and pacing profile. *PLoS ONE*, v. 12, n. 3, 1 mar. 2017.

WU, C. H. et al. Consensus Statement on the Use of Bone Turnover Markers for Short-Term Monitoring of Osteoporosis Treatment in the Asia-Pacific Region. *Journal of Clinical Densitometry*, v. 24, n. 1, p. 3–13, 1 jan. 2021.

YUAN, Y. et al. The roles of exercise in bone remodeling and in prevention and treatment of osteoporosis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, v. 122, n. 2, p. 122–130, 1 nov. 2016.

ZANKER, C. L.; SWAINE, I. L. Relation between bone turnover, oestradiol, and energy balance in women distance runners *Br J Sports Med*. [s.l: s.n.].

ZANKER, C. L.; SWAINE, I. L. Responses of bone turnover markers to repeated endurance running in humans under conditions of energy balance or energy restriction. *European Journal of Applied Physiology*, v. 83, n. 4–5, p. 434–440, 2000.