

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

RENATA LEITE TAVARES

**CAPACIDADE ANABÓLICA DE *MUCUNA PRURIENS* EM
RATOS TREINADOS**

JOÃO PESSOA – PB
2014

RENATA LEITE TAVARES

**CAPACIDADE ANABÓLICA DE *MUCUNA PRURIENS* EM
RATOS TREINADOS**

JOÃO PESSOA – PB
2014

RENATA LEITE TAVARES

**CAPACIDADE ANABÓLICA DE *MUCUNA PRURIENS* EM
RATOS TREINADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição.

Área de Concentração: Ciências da Nutrição

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva

Co-orientadora: Prof. Dra. Jailane de Souza Aquino

JOÃO PESSOA – PB
2014

T231c Tavares, Renata Leite.

**1.2.1.1. Capacidade anabólica de *Mucuna pruriens* em ratos
treinados / Renata Leite Tavares. - - João Pessoa: [s.n.], 20104**

88f.: il. -

Orientador: Alexandre Sérgio Silva

Coorientadora: Jailane de Souza Aquino

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCS.

*1. Leguminosas. 2. Testosterona. 3. Treinamento de
resistência.*

RENATA LEITE TAVARES

CAPACIDADE ANABÓLICA DE *MUCUNA PRURIENS* EM RATOS TREINADOS

Dissertação _____ em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva

Coordenador da Banca Examinadora

(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição)

Prof. Dra. Jailane de Souza Aquino

Co-orientadora

(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição)

Prof. Dra. Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga

Examinador Interno – Titular

(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição)

Prof. Dra. Liana Clébia Soares Lima de Moraes

Examinador Interno – Suplente

(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição)

Prof. Dr. Wagner Luiz do Prado

Examinador Externo – Titular

(UPE/Centro de Ciências da Saúde/Programa Associado de Pós-graduação em Educação Física UPE/UFPB)

Prof. Dr. Marcos Antônio Pereira dos Santos

Examinador Externo – Suplente

(UFPI/Centro de Ciências da Saúde/Departamento de Biofísica e Fisiologia)

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus e Nossa Senhora das Graças, por todas as bênçãos derramadas em minha vida.

Aos meus pais, que participaram ativamente de todas as etapas desta caminhada. Obrigada pela ajuda incondicional. Sem vocês nada disso seria possível.

Às minhas irmãs, amigas e companheiras, meu agradecimento pela preocupação, dedicação e apoio em tudo que eu faço.

A Roberto Magno, meu namorado, pela escuta, atenção, paciência e apoio.

Ao professor Dr. Alexandre Sérgio Silva, por me aceitar como orientanda mesmo com o projeto já em andamento. Todos os ensinamentos técnicos, científicos e éticos passados a mim contribuíram muito para o meu crescimento profissional e pessoal.

À professora Dra. Jailane de Souza Aquino, pelo acompanhamento e pelos ensinamentos fundamentais durante a elaboração do projeto e execução da pesquisa experimental. A sua ajuda e confiança foram essenciais para a realização desta pesquisa.

Aos demais professores que compõem o Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, que contribuíram para meu aprimoramento acadêmico.

Ao professor Dr. Alexandre Pereira Schuler (Departamento de Química Industrial – UFPE), pela execução da análise de ácidos graxos.

À professora Dra. Ana Regina Nascimento Campos (Departamento de Química – UFCG), pela execução da análise de minerais.

Ao senhor Raimundo Nonato da Silva Filho, técnico do Laboratório de Farmacoquímica (Departamento de Ciências Farmacêuticas), pela execução do *screening* fitoquímico.

Ao senhor Gilvandro Costa, técnico do Laboratório de Bioquímica dos Alimentos (Centro de Tecnologia – UFPB) pela execução das análises de amido e fibra.

Ao CNPq/CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos integrantes do Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e à Saúde, pela convivência curta, mas bastante proveitosa.

E aos integrantes do Laboratório de Nutrição Experimental, pela importante ajuda oferecida a mim durante a execução do experimento.

“Se nunca abandonas o que é importante para ti,
e te importas tanto a ponto de estares a lutar para obtê-lo,
asseguro-te que tua vida estará plena de êxito.
Será uma vida dura, porque a excelência não é fácil;
mas valerá à pena.”

Richard Bach

RESUMO

A *Mucuna pruriens* (MP) tem demonstrado capacidade de aumentar espermatogênese e peso de testículos em modelo animal e por isso passou a ser comercializada com a promessa de estímulo à biossíntese de testosterona mesmo sem comprovação científica. Assim, este estudo objetivou testar a capacidade da MP sobre a produção de testosterona e verificar os efeitos no perfil lipídico, estresse oxidativo, função hepática e composição corporal em ratos submetidos a treinamento de resistência. Farinha e extrato hidroalcoólico do grão de MP foram produzidos e avaliados quanto à composição nutricional. Foram utilizados ratos Wistar (n=35) para testar atividade anabólica da MP, randomizados nos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), suplementado com MP sedentário (MPS) e treinado (MPT). Os grupos treinados realizaram exercício resistido durante dez semanas e os suplementados receberam 250 mg do extrato de MP/kg/dia. Foram avaliados consumo alimentar e peso corporal semanalmente; peso de fígado, testículos e gordura visceral, colesterol total e frações, triglicerídeos (TG), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), malondialdeído (MDA) e composição corporal por absorptometria de feixe duplo de raios-x (DEXA). O extrato de MP apresentou 7,6 g de gordura, 36 g de carboidrato, 43,4g de proteína e minerais como potássio, ferro, fósforo e cálcio, além de antioxidantes. A suplementação crônica de MP isolada ou associada ao treinamento não alterou a biossíntese de testosterona, o desenvolvimento testicular, o dano muscular e a peroxidação lipídica induzidas pelo treinamento, nem a composição corporal dos animais. Marcadores hepáticos permaneceram inalterados, mas ocorreu redução do HDL-c em 19,7% entre CS e MPS, 15% entre MPT e MPS e 19,9% entre CT e MPS ($p<0,05$). Em contrapartida, também houve redução do colesterol total em 14,7% entre CT e MPS ($p<0,05$); 6,1% entre CT e MPT ($p<0,01$), VLDL-c em 7,9% entre CT e CS e 14,9% entre CT e MPS, ($p<0,05$); 55,1% entre CT e MPT ($p<0,01$), TG em 52,4% entre MPT e CS ($p<0,05$); 62,5% entre CT e MPT e 56,2% entre CT e MPS ($p<0,01$) e gordura visceral em 31,3% entre CS e MPS, 28,2% entre CS e CT ($p<0,05$); 33,1% entre CS e MPT ($p<0,01$). Redução no consumo alimentar foi observada somente nos grupos treinados a partir da quarta semana até o final do tratamento. Conclui-se que a suplementação crônica de MP associada ao treinamento não apresentou propriedade anabólica e reduziu a concentração sérica de HDL-c, mas causou diminuição no consumo alimentar, peso de gordura visceral, colesterol total, VLDL-c e TG.

Palavras-chave: Leguminosas, Testosterona, Treinamento de resistência

ABSTRACT

Mucuna pruriens (MP) has demonstrated the ability to increase spermatogenesis and testicular weight in animal model and therefore came to be marketed with the promise of stimulating testosterone biosynthesis even without scientific proof. Thus, this study aimed to test the ability of MP on synthesis of testosterone and verify effects on lipid profile, oxidative stress, liver function and body composition in trained rats. It was produced flour and alcoholic extract of MP, which had nutritional composition evaluated. Wistar rats (n=35) were used to test anabolic activity of MP. They were randomized into control sedentary (CS), trained control (CT), sedentary supplemented with MP (MPS), and trained supplemented with MP (MPT). Trained animals performed resistance exercise protocol during ten weeks and supplemented animals received 250 mg of extract of MP/kg/day. Food consumption and body weight were assessed weekly and weight of liver, testes and visceral fat, total cholesterol and fractions, triglycerides (TG), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA) and animals' body composition were measured by absorptiometry dual-energy x-ray absorptiometry. MP extract showed 7.6 g of fat, 36 g of carbohydrate, 43.4 g of protein and minerals such as potassium, iron, phosphorus and calcium. Phytochemical analysis indicated the presence of antioxidants. Chronic supplementation of MP alone or associated with training did not affect biosynthesis of testosterone, testicular development, muscle damage and lipid peroxidation induced by training or body composition. Hepatic markers remained unchanged, but there was a reduction of HDL-C by 19.7% between CS and MPS, 15% between MPT and MPS and 19.9% between CT and MPS ($p<0.05$). However, also decreased the total cholesterol in 14.7% between CT and MPS ($p<0.05$), 6.1% between CT and MPT ($p<0.01$), VLDL-C in 7.9% between CS and CT and 14.9% between CT and MPS ($p<0.05$) and 55.1% between CT and MPT ($p<0.01$), TG 52.4% between MPT and CS ($p<0.05$), 62.5% between CT and MPT and 56.2% between CT and MPS ($p<0.01$) and visceral fat in 31.3% between CS and MPS, 28.2% between CS and CT ($p<0.05$), 33.1% between CS and MPT ($p<0.01$). Reduction in food consumption was observed only in trained groups from the fourth week until the end of treatment. It was concluded that chronic supplementation of MP associated with training did not show anabolic properties and reduced serum HDL-C, but decreased food intake, weight of visceral fat, total cholesterol, VLDL-C and TG.

Key-words: Legume, Testosterone, Resistance training.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

Figura 1.	Distribuição geográfica da produção mundial de MP	15
Figura 2.	Ilustração da <i>Mucuna pruriens</i> em diferentes estágios da produção: árvore (A), vagem (B), flores (C) e grãos (D)	15
Figura 3.	Mecanismos moleculares envolvidos na hipertrofia muscular	20
Figura 4.	Biossíntese da testosterona e interconversão dos seus precursores	26
Figura 5.	Protocolo de treinamento de força realizado por ratos treinados suplementados ou não com MP	36

LISTA DE QUADROS DA DISSERTAÇÃO

Quadro 1.	Fatores relacionados à estimulação da hipertrofia muscular	21
------------------	--	----

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO 1

Figura 1.	Variação de peso corporal de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP	58
Figura 2.	Efeito da suplementação de MP na composição corporal de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP	59
Figura 3.	Testosterona sérica e peso dos testículos de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP.....	60
Figura 4.	Enzimas hepáticas e peso do fígado de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP	62
Figura 5.	Perfil lipídico de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP	62

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO 1

Tabela 1.	Marcadores de dano muscular e estresse oxidativo mensurados em ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP	61
------------------	--	----

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO 2

Tabela 1.	Composição centesimal da farinha e extrato de <i>Mucuna pruriens</i>	77
Tabela 2.	Perfil de ácidos graxos presentes na farinha e no extrato de <i>Mucuna pruriens</i>	78
Tabela 3.	Composição mineral da farinha e extrato de <i>Mucuna pruriens</i>	79
Tabela 4.	<i>Screening</i> fitoquímico de <i>Mucuna pruriens</i>	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

17βHSD3	17 β hidroxisteroide deshidrogenada
3βHSD2	3 β hidroxisteroide deshidrogenada
ACTN3	Alfa-actinina 3
Akt	Proteína quinase B
ALT	Alanina amino transferase
AST	Aspartato amino transferase
CK	Creatina quinase
CS	Controle sedentário
CT	Controle treinado
DEXA	Absortometria de feixe duplo de raios-x
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EAA	Esteróide anabólico androgênico
FoxO	<i>Forkhead box O</i>
FSH	Hormônio folículo estimulante
GH	Hormônio do crescimento
GSK3β	Glicogênio sintase quinase β
ICSH	Hormônio estimulante das células intersticiais
IGF-1	Fator de crescimento dependente de insulina 1
LDH	Lactato desidrogenase
LH	Hormônio luteinizante
MDA	Malondialdeído
MGF	Fator de crescimento induzido por estresse mecânico
MP	<i>Mucuna pruriens</i>
MPS	<i>Mucuna pruriens</i> sedentário
MPT	<i>Mucuna pruriens</i> treinado
PI3K	Fosfatidil inositol-3 quinase
RNA	Ácido ribonucleico
RNA_m	Ácido ribonucleico mensageiro
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	<i>MUCUNA PRURIENS</i>	15
2.1.1	Composição nutricional e fitoquímica	16
2.1.2	Efeitos terapêuticos da <i>Mucuna pruriens</i>	16
2.1.3	Possível ação ergogênica da <i>Mucuna pruriens</i>	18
2.2	MECANISMOS ENVOLVIDOS NA HIPERTROFIA MUSCULAR	20
2.2.1	Mecanismos moleculares envolvidos na hipertrofia muscular	20
2.2.2	Fatores capazes de estimular os mecanismos moleculares da hipertrofia	21
2.3	TESTOSTERONA	26
2.3.1	Testosterona e exercício físico	29
2.3.2	Efeitos adversos do uso de testosterona	30
2.3.2.1	<i>Efeitos adversos sobre o estresse oxidativo, perfil lipídico e função hepática</i>	<i>31</i>
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	TIPO DE PESQUISA	33
3.2	PREPARAÇÃO DA FARINHA E DO EXTRATO DE <i>MUCUNA PRURIENS</i>	33
3.3	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA E DO EXTRATO DE <i>MUCUNA PRURIENS</i>	33
3.3.1	Composição nutricional da farinha e do extrato de <i>Mucuna pruriens</i>..	33
3.3.1.1	<i>Composição centesimal</i>	<i>33</i>
3.3.1.2	<i>Perfil de ácidos graxos</i>	<i>34</i>
3.3.1.3	<i>Composição mineral</i>	<i>34</i>
3.3.1.4	<i>Screening fitoquímico</i>	<i>35</i>
3.4	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	36
3.5	ANÁLISE DOS EFEITOS ANABÓLICOS DO EXTRATO DE <i>MUCUNA PRURIENS</i> EM RATOS	36
3.6	PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO	37
3.7	AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E DA MASSA	

	CORPORAL	38
3.8	EUTANÁSIA	38
3.9	ANÁLISES BIOQUÍMICAS	38
3.10	ANÁLISES DE TECIDOS E ÓRGÃOS	39
3.11	ABSORTOMETRIA DE FEIXE DUPLO DE RAIOS-X (DEXA)	39
3.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
	REFERÊNCIAS	41
	ANEXO	49
	ARTIGO 1	51
	ARTIGO 2	74

1 INTRODUÇÃO

A *Mucuna pruriens* (MP) é uma leguminosa originária da Índia, utilizada por pequenas populações, especialmente comunidades de baixa renda, como fonte alternativa de nutrientes (NWAOGUIKPE; BRAIDE; UJOWUNDU, 2011). Apesar de subutilizada, pesquisas têm demonstrado aplicabilidade terapêutica importante e composição nutricional com cerca de 60% de carboidratos, 28% de proteínas e 2,5% de lipídeos (AHMAD et al., 2012).

Há muitos anos a medicina Ayurvédica já utiliza a MP no tratamento da doença de Parkinson, uma das mais importantes doenças degenerativas, caracterizada pela presença de tremores, rigidez, instabilidade e outras manifestações não relacionadas ao movimento, como sonolência e disfunções olfativas. Estas características são o resultado da deficiência na produção de levodopa, um neurotransmissor cerebral precursor da dopamina produzido endogenamente. Sendo a MP rica em levodopa, droga amplamente utilizada no tratamento desta patologia, seu papel no tratamento da doença de Parkinson já está bem esclarecido (THARAKAN, 2007).

Além desta aplicação, muitos estudos têm relatado outras propriedades da MP. Tem sido proposto um papel hipoglicemiante (MAJEKODUNMI et al., 2011), anti-inflamatório, diurético (BALA et al., 2011), hipolipemiante (EZE et al., 2012), afrodisíaco (SURESH; PRITHIVIRAJ; PRAKASH, 2009), além de haver estudos demonstrando sua atividade androgênica (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011; AHMAD et al., 2012) e estrogênica (SHAHAJI; PARNU, 2011).

Desde 2008 tem sido avaliada a ação da MP como estímulo afrodisíaco, resultando em aumento no volume seminal, concentração, contagem e motilidade do espermatozoide, aumento de peso dos órgãos sexuais, concentrações de testosterona sérica e testicular, teor proteico do epidídimo, testículos e colesterol após tratamento com MP (AHMAD et al., 2008; SURESH; PRITHIVIRAJ, PRAKASH, 2009; MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011; AHMAD et al., 2012).

Estes resultados têm criando grande especulação quanto à atividade ergogênica desta leguminosa no âmbito esportivo, de modo que produtos à base de extratos de MP já estão sendo amplamente comercializados por meio de internet em farmácias de manipulação (NATUSVITA, 2014), mesmo sem pesquisas científicas relacionando o uso de MP ao estímulo à síntese de testosterona e hipertrofia muscular.

Esta propriedade que está sendo sugerida merece ser analisada cautelosamente, pois a proposta de uso de extrato de MP como um suplemento natural, de origem vegetal e que por isso não traz efeitos colaterais indesejáveis ainda não foi confirmada. Pelo contrário, aumento do colesterol total em animais representa um efeito adverso do uso da MP (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011; AHMAD et al., 2012).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi elaborar e caracterizar extrato à base de MP, testar sua resposta sobre a produção de testosterona e avaliar respostas hepáticas e metabólicas em ratos submetidos a treinamento de resistência, tendo como objetivos específicos:

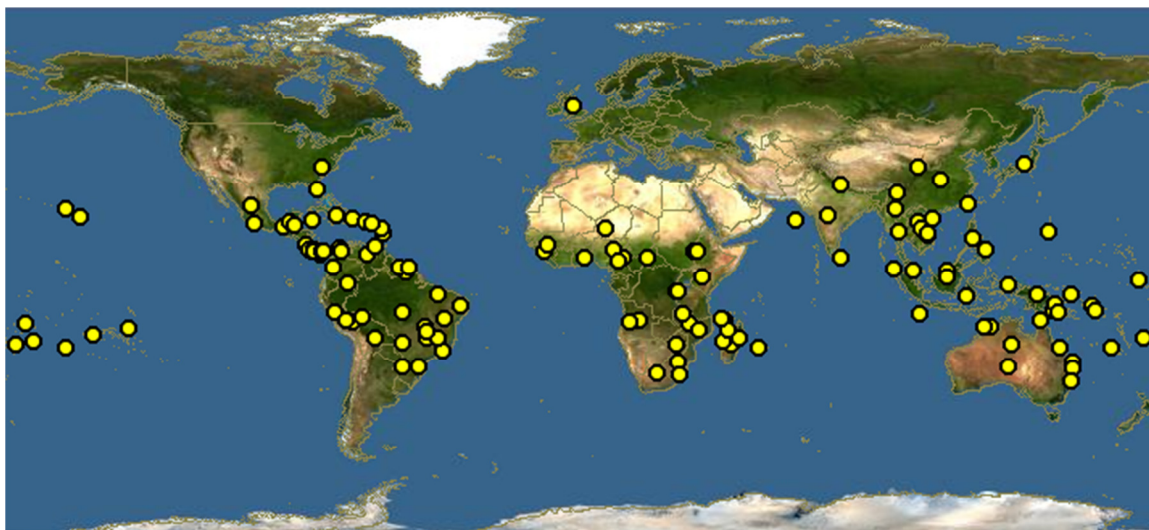
- Determinar a composição nutricional da farinha e do extrato de MP cultivada no nordeste brasileiro;
- Examinar o efeito da suplementação de MP sobre o hormônio testosterona, consumo alimentar, o ganho de peso e composição corporal em modelo animal;
- Analisar os marcadores de dano muscular e estresse oxidativo em modelo animal;
- Avaliar o efeito da suplementação de MP sobre o metabolismo hepático e lipídico por meio das variáveis bioquímicas: alanina amino transferase (ALT), aspartato amino transferase (AST), colesterol total e frações e triglicerídeos (TG) em modelo animal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *MUCUNA PRURIENS*

A MP é um membro da família *Fabaceae*, que é formada por aproximadamente 650 gêneros e 2.000 espécies. Também é conhecida por “*velvet bean, lion bean, nescafe, cowage*” (HAMMERTON, 2003). É uma leguminosa originária da Índia e cultivada em países como Sri Lanka, Malásia, no sudeste da Ásia e em regiões tropicais, como Américas Central e do Sul (MAJEKODUNMI et al., 2011). As principais regiões onde há produção de MP estão demonstradas na Figura 1.

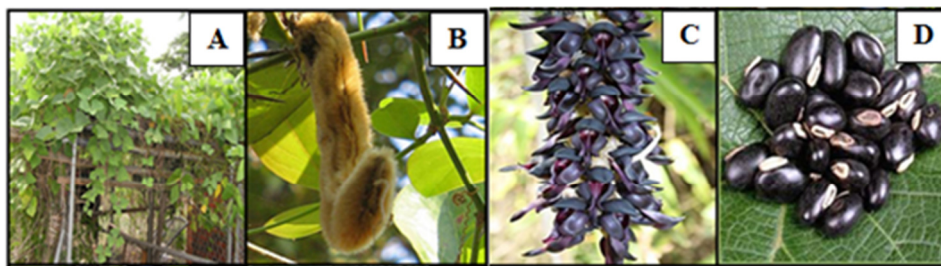
Figura 1. Distribuição geográfica da produção mundial de MP.



Fonte: <<http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Mucuna>>

A planta é uma trepadeira que pode atingir de três a dezoito metros de altura, possui vagens com cerca de doze centímetros de comprimento contendo em média sete grãos. Estas vagens são cobertas por pelos de cor alaranjada, que podem causar irritação na pele. Os grãos apresentam coloração variada, que vai desde o bege até marrom e preta, além de grãos rajados. As flores da MP são vistosas, com até trinta centímetros de comprimento e coloração também variada de branca a roxo escuro, por isso são bastante utilizadas em decoração (RAINA; TOMAR; DUTTA, 2012) (Figura 2).

Figura 2. Ilustração da *Mucuna pruriens* em diferentes estágios da produção: árvore (A), vagem (B), flores (C) e grãos (D).



Fonte: <<http://johnstarnesurbanfarm.blogspot.com.br/2010/04/rare-velvet-bean-seeds-for-sale.html>>.

2.1.1 Composição nutricional e fitoquímica

Na composição da MP encontra-se grande quantidade de proteínas (28,23%), e carboidratos (60,03%) e baixo percentual lipídico (2,69%), além de adequada composição mineral. Entretanto, também há componentes antinutricionais, tais como taninos e ácido fítico, inibidores enzimáticos, tripsina, saponinas, lectinas e atividade de hemaglutininas (VADIVEL; PUGALENTI, 2010; NWAOGUIKPE; BRAIDE; UJOWUNDU, 2011; AHMAD et al, 2012), além de elevado teor de levodopa, que a torna extremamente tóxica e inapropriada ao consumo humano sem tratamento prévio. Estes fatores antinutricionais necessitam ser inativados por tratamentos como fervura e imersão associado à fervura (BETANCUR-ANCONA et al., 2008).

Nwaoguikpe, Braide e Ujowundu (2011), compararam a composição nutricional e fitoquímica dos grãos de MP crus e submetidos aos tratamentos de fervura e imersão associado à fervura. Estes tratamentos levaram a diminuições nos teores de proteínas, lipídeos e fibras, aumento da quantidade de carboidratos e diminuição em todos os fitoquímicos analisados (flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos, fenóis).

2.1.2 Efeitos terapêuticos da *Mucuna pruriens*

A MP é utilizada em tratamentos medicinais da cultura popular indiana que aplicam todas as partes desta planta: folhas, raízes, caule e grãos, para tratar dor de dente, desconforto abdominal, resfriados entre outros (HAMMERTON, 2003). Estudos da última década avaliaram a ação terapêutica deste grão em patologias relacionadas à formação de radicais livres, doença de Parkinson, diabetes mellitus, dislipidemias, além de atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, androgênica, antioxidante entre outras.

Bala et al. (2011) realizaram dois testes experimentais em ratos para avaliar o poder anti-inflamatório do extrato das partes aéreas de MP, que consistiam em indução de edema nas patas dos animais através da administração de carragenina e na inserção de bolas de algodão nas axilas. Em ambos os ensaios, o extrato demonstrou forte atividade anti-inflamatória, com resultados comparáveis ao uso do medicamento padrão, a aspirina.

Tripathi e Upadhyay (2002) analisaram a atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* do extrato alcoólico de MP. Nas análises *in vitro*, não houve alterações na taxa de oxidação de glutathione, mas houve inibição da peroxidação lipídica induzida pelo sulfato ferroso (FeSO_4). Para a análise *in vivo*, não houve alterações no nível de substâncias TBA-reativas, conteúdo de glutathione reduzida e atividade da superóxido dismutase no fígado. No plasma também não foram encontradas diferenças nas concentrações de ALT, AST e fosfatase alcalina. Atribuiu-se à MP a propriedade anti-peroxidação lipídica, mediada através da remoção de radicais superóxido e hidroxila.

Os resultados encontrados por Ahmad et al. (2008) reforçam a possível atividade antioxidante da MP, uma vez que foi observada redução no malondialdeído (MDA), melhora do perfil lipídico seminal (lipídios totais, colesterol, triglicerídeos e fosfolipídios) e aumento nas concentrações de vitaminas antioxidantes nos indivíduos que receberam o extrato de MP. Gupta et al. (2011) também obtiveram redução nos valores de MDA em homens inférteis tratados com MP. Estes são estudos importantes, pois testam a atividade antioxidante da MP em humanos, encontrando resultados animadores.

Apenas o estudo de Aguiyi et al. (2011) relaciona a resposta da MP sobre marcadores de dano muscular creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH). Neste, foi injetado veneno de cobra em animais que haviam sido previamente tratados durante três semanas com extrato de MP, que resultou na inibição de aumentos nos marcadores CK e LDH.

A MP é utilizada no tratamento da doença de Parkinson há gerações, principalmente pela medicina Ayurvédica. O resultado positivo do tratamento é devido ao seu alto teor de levodopa, que consegue ultrapassar a barreira hematoencefálica e atuar na produção da dopamina (RAINA; TOMAR; DUTTA, 2012). Desde a década de 1990 são realizadas pesquisas com o objetivo de testar a aplicabilidade de um produto farmacológico à base de MP para o tratamento da doença de Parkinson. Mahajani et al. (1996) testaram um produto denominado HP-200, que continha 4% de levodopa proveniente da MP, que foi administrado em dose única, resultando em pico de absorção, tempo de vida no plasma e área sob curva encontrada similares à levodopa comercial, e assim, concluiu-se que o produto derivado de MP demonstra ser adequado para o tratamento da Doença de Parkinson.

Majekodunmi et al. (2011) analisaram a capacidade de aplicação da MP no tratamento da hiperglicemia em ratos que foram induzidos à diabetes melitus. Para avaliar o resultado agudo, os animais foram tratados com dosagens diferentes do extrato de MP e foi obtida redução da glicemia comparável à glibenclamida – droga padrão utilizada no experimento – nas maiores concentrações de MP. Para o efeito crônico, foi administrado o extrato de MP ou glibenclamida durante 12 semanas, resultando em diminuição da glicemia nos animais tratados com MP, similar ao resultado obtido com a glibenclamida.

Ao analisar o efeito da MP no perfil lipídico, Eze et al. (2012) administraram o extrato de MP em três concentrações durante 21 dias a ratos normoglicêmicos, enquanto o grupo controle recebeu metformina. Foi observado que houve melhora significativa no colesterol total apenas no grupo que recebeu a maior concentração do extrato de MP. A maior redução nos triglicerídeos foi observada nos animais tratados com metformina, apesar de ter havido diminuição deste parâmetro nos outros grupos. A fração HDL-colesterol aumentou de maneira dose-dependente tanto nos ratos que receberam o extrato de MP como nos tratados com metformina. Já a fração LDL-colesterol foi reduzida em todos os grupos, sendo mais expressiva nos animais que receberam o extrato de MP. Entretanto, Muthu e Krishnamoorthy (2011) e Ahmad et al. (2012) observaram aumento no colesterol total em animais suplementados com MP.

Quanto à atividade antimicrobiana, Bala et al. (2011) analisaram a atividade do extrato de MP contra cepas de *Staphylococcus saprophyticus*, *Shigella sonnie*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera*, *Streptococcus epidermidis*, *Shigella flexneri* e *Staphylococcus aureus*. Como resultado, o extrato apresentou significativa atividade antibacteriana contra todos os microrganismos, sendo mais importante contra a *Shigella sonnie*. Os autores destacam ainda a necessidade de desenvolver experimentos acerca da capacidade antimicrobiana de MP sobre outras espécies de microrganismos, além de fungos e vírus.

2.1.3 Possível ação ergogênica da *Mucuna pruriens*

Suresh, Prithiviraj e Prakash (2009) analisaram o comportamento sexual de ratos normais aos quais foi administrado extrato etanólico de MP. Estes animais demonstraram melhores resultados quanto ao comportamento pré-coito, como caçada, farejamento e farejamento anogenital, assim como os reflexos penianos. Nesta pesquisa também foi observado aumento de peso dos órgãos sexuais, número e motilidade dos espermatozoides, resultados que confirmam a natureza afrodisíaca da MP.

Ahmad et al. (2008) avaliaram o efeito da MP no perfil de sêmen em homens inférteis. Observaram que volume seminal, concentração, contagem e motilidade do esperma apresentaram-se aumentados em relação ao grupo controle após tratamento, que consistia em consumo de 5 mg do extrato de MP durante três meses. Além deste achado, o grupo também observou redução nos peróxidos lipídicos (MDA) e correção do perfil lipídico seminal (lipídios totais, colesterol, triglicerídeos e fosfolipídios). As vitaminas A, C e E também foram aumentadas nos indivíduos que receberam o extrato de MP e estas vitaminas possuem função antioxidante e são estimuladores do sistema imunológico.

A melhora na função testicular poderia estar proporcionando estímulo anabólico por meio do aumento da produção de testosterona e seus efeitos na hipertrofia muscular ou redução de gordura corporal. A atividade androgênica da MP foi analisada por Muthu e Krishnamoorthy (2011), quando observaram ganho de peso nos testículos, epidídimo, vesícula seminal e próstata dos ratos suplementados com o extrato metanólico de MP. Além do peso destes órgãos, houve aumento significativo de testosterona sérica e testicular, teor proteico do epidídimo e dos testículos e colesterol nos grupos suplementados. O aumento do peso dos órgãos sexuais é resultado da biossíntese andrógena, demonstrada pela elevação das concentrações de testosterona sérica e testicular. Os resultados supracitados embasam esta capacidade, relacionando-a com a produção de hormônios androgênicos. No entanto, os pesquisadores não avaliaram qualquer efeito ergogênico (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011).

Em um estudo conduzido por Ahmad et al. (2012), os autores observaram acréscimo nas concentrações de testosterona sérica, proteína sérica total e colesterol total em ratos suplementados com extrato aquoso e etanólico de MP, resultado que confirma a ação androgênica dos extratos. Estes dados explicam o aumento da atividade anabólica e do peso corporal nos animais analisados. Sabe-se que o hormônio testosterona é considerado anabólico e leva ao aumento de massa muscular e consequentemente, do peso corporal. Apesar disso, os dados deste estudo não permitem determinar se o aumento do peso corporal se deu por aumento de massa muscular.

Muitos pesquisadores tem analisado a atividade androgênica da MP, atingindo resultados promissores. Entretanto, os estudos não são capazes de associar esta estimulação da síntese de hormônios anabólicos devido ao uso de MP com a hipertrofia muscular. Ademais, nenhum estudo foi conduzido para testar possíveis atividades ergogênico anabólica muscular em ratos ou humanos. Este é um aspecto importante a ser analisado, uma vez que a utilização de produtos com a função anabólica tem crescido, sendo necessário também analisar a

qualidade das novas alternativas que levam ao aumento de massa magra. Apesar da escassez e limitação dos dados dos estudos prévios, já tem sido largamente comercializados suplementos à base de MP que prometem hipertrofia muscular e emagrecimento.

2.2 MECANISMOS ENVOLVIDOS NA HIPERTROFIA MUSCULAR

A síntese proteica é o mais importante fenômeno da hipertrofia muscular, que pode ocorrer por espessamento ou aumento do número de miofibrilas e elevação do número de sarcômeros (SCHOENFELD, 2010). É expressa através do aumento do volume muscular em função do aumento, principalmente, da síntese de proteínas contráteis, do volume de água intracelular, do tecido conjuntivo e ampliação da reserva de adenosina trifosfato, fosfocreatina e glicogênio das fibras musculares (DEFREIRAS et al., 2011).

2.2.1 Mecanismos moleculares envolvidos na hipertrofia muscular

O processo de hipertrofia muscular é primariamente um processo gênico, que se inicia nos vários núcleos de cada fibra muscular através da transcrição do código do ácido desoxirribonucleico (DNA) para o ácido ribonucleico (RNA), originando um RNA mensageiro (RNAm). No citoplasma, o RNAm é traduzido pelo ribossomo a partir do códon de iniciação e segue identificando e unindo os aminoácidos correspondentes aos códigos até que seja encontrado o códon de terminação. Os aminoácidos formados unem-se e dão origem às proteínas, liberadas no citoplasma ou retículo sarcoplasmático.

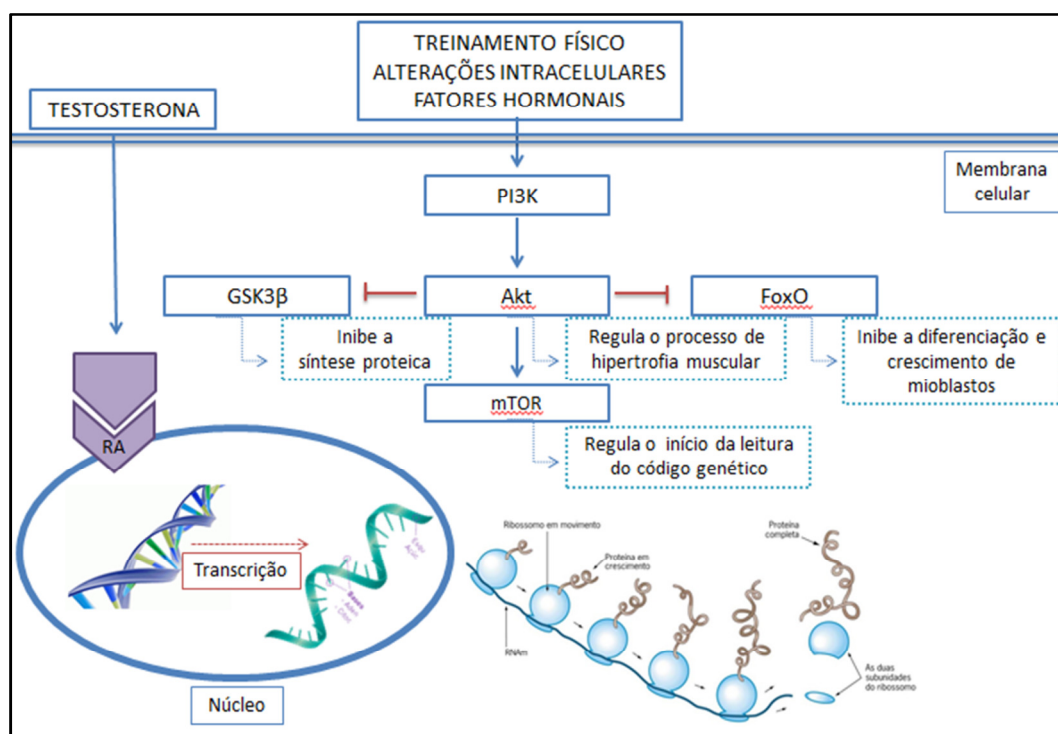
Os danos musculares causados pelo treinamento ou hormônios anabólicos, como fator de crescimento dependente de insulina 1 (IGF-1) e insulina são capazes de estimular, através do mensageiro fosfatidil inositol-3 quinase (PI3K), uma serina-treonina quinase denominada proteína quinase B (Akt), que regula o processo de hipertrofia muscular através de dois eixos: *mammalian target of rapamycin* (mTOR) e *forkhead box O* (FoxO) (GLASS, 2005).

A Akt estimula a atividade do sinalizador mTOR, que é um complexo regulador do início da leitura do código genético do RNAm e um fator chave para que se inicie a produção de proteínas e o crescimento muscular, tanto por ativar vias anabólicas (como a proteína ribossomal subunidade 6 70 Kd, cuja ausência causa a diminuição dos músculos) como por inativar as vias catabólicas (a exemplo de PHAS-1, pois seu bloqueio aumenta a síntese proteica). Outros fatores também são capazes de ativar mTOR, como aminoácidos, ácido fosfatídico, fosfolipase, estímulo mecânico, entre outros. Assim, muitos estudos atuais

buscam meios de ativar este complexo com o objetivo de estimular a hipertrofia muscular (SPANGENBURG, 2009; GLASS, 2005). A Akt também inibe a atividade de FoxO, uma molécula intimamente relacionada ao metabolismo celular, que influencia negativamente a diferenciação e crescimento dos mioblastos, estando assim relacionada à perda de massa muscular e apoptose celular (ZHANG et al., 2011).

Além das duas ações acima citadas, a Akt inibe a atividade da enzima glicogênio sintase quinase 3 β (GSK3 β), capaz de regular a hipertrofia, pois uma vez inibida ocorre estímulo da síntese proteica (GLASS, 2005). Em suma, a Akt é capaz de criar um meio celular que inibe a apoptose através à inibição de FoxO e GSK3 β e estímulo à síntese proteica por meio da ativação da mTOR (ZHANG et al., 2011). Todos estes mecanismos estão demonstrados na figura 3.

Figura 3. Mecanismos moleculares envolvidos na hipertrofia muscular.



Fonte: adaptado de Spangenburg (2009) e Glass (2005).

2.2.2 Fatores capazes de estimular os mecanismos moleculares da hipertrofia

Muitos aspectos estão envolvidos no processo de hipertrofia muscular, estimulando ou diminuindo a sua intensidade. Unicamente o fato de o músculo estar contraindo-se ou alongando-se é suficiente para estimular a transcrição em nível nuclear. Danos mecânicos ao

tecido muscular causados pelo treinamento físico são estímulos muito potentes para disparar o processo de hipertrofia. Outros fatores similarmente eficazes são alterações ocorridas dentro da célula muscular em resposta ao treinamento físico, como mudanças na disponibilidade de oxigênio ou na concentração dos íons intracelulares. Alterações bioquímicas, fatores hormonais, genéticos e imunológicos atuam sinergicamente estimulando transcrição no RNA, aumentando a eficácia do processo de tradução, a captação de aminoácidos ou todos estes fatores ao mesmo tempo (SPANGENBURG, 2009).

Estes fatores participam do mecanismo de hipertrofia muscular através da ativação gênica, estimulação de enzimas-chave, a exemplo de CK e LDH, que intensificam o aumento de massa muscular, além de inibir a atividade das enzimas responsáveis pelo catabolismo muscular (Quadro 1).

Quadro 1. Fatores relacionados à estimulação da hipertrofia muscular.

Treinamento físico	Fatores intracelulares	Fatores genéticos	Fatores hormonais
Alongamento	Células satélite	Alfa-actinina 3	Hormônio do crescimento
Contração muscular	Hipóxia	Miostatina	IGF-1
Microlesão muscular	Osmolaridade		Insulina
			Testosterona

Fonte: adaptado de Silva et al., 2010.

O treinamento de força, utilizando-se de contração e alongamento muscular, produz estímulos mecânicos que são interpretados como estímulos fisiológicos capazes de promover o processo de hipertrofia muscular. Este fenômeno é denominado mecanotransdução, que mesmo sem produzir lesões musculares, é capaz de desencadear uma sequência de reações influenciando outros fatores que ativam diretamente a diferenciação e crescimento das fibras musculares, como células satélites, fatores de transcrição, atividade ribossômica, que por sua vez estimulam a expressão genética e aumentam a síntese proteica (ORR et al., 2006).

O treinamento muscular é capaz de originar microlesões no tecido muscular, particularmente nas linhas Z dos sarcômeros, sarcolema, retículo sarcoplasmático, lâmina basal, mitocôndrias e no tecido conectivo. Esse estresse ativa uma sequência de reações imunológicas e um conjunto de vários fatores capazes de induzir aumento na transcrição, tradução ou formação de proteína muscular (CLARKSON; HUBAL, 2002).

As células satélites são estruturas ricas em material genético capazes de proliferarem-se e fundirem-se entre si ou com outras células, levando ao aumento do número de células ou núcleos celulares. Estudos mostram que a inativação das células satélites leva à perda significativa da hipertrofia, de forma parcial ou total. Não só as microlesões são capazes de estimular a atividade das células satélites, mas também hormônios como hormônio do crescimento (GH), testosterona e fator de crescimento dependente de insulina (IGF-1), óxido nítrico e outros (ADAMS et al., 2002).

O fator de crescimento induzido por estresse mecânico (MGF) participa da ativação de células satélites e leva à hipertrofia, assim como sua deficiência causa perda de massa muscular. Este nome foi atribuído por ocorrer somente em músculos lesionados ou após estimulação mecânica. Uma vez que o MGF é capaz de inibir a diferenciação celular e estimular a proliferação celular, este surge como um fator chave para a hipertrofia muscular e um novo alvo de estudos como estímulo à sobrevivência e proliferação de mioblastos (QIN et al., 2012).

A diferenciação e o crescimento celular dependem, entre outros fatores, da disponibilidade de oxigênio, necessário para que estes processos ocorram adequadamente. A baixa disponibilidade de oxigênio para as células é denominada hipóxia e pode interferir no metabolismo, proliferação e diferenciação celular com capacidade similar de ativar os mecanismos da hipertrofia. Ren, Accili e Duan (2010) analisaram os efeitos da hipóxia na diferenciação celular e concluíram que a ausência de oxigênio no meio celular inibe as atividades de Akt e mTOR, diminuindo a capacidade de diferenciação dos mioblastos, além de inibir o p38-proteína quinase ativada por mitógenos, um sinalizador de diferenciação dos mioblastos, assim estes fatores passam a responder diferentemente ao IGF-1, dificultando a diferenciação celular. Desta forma, a hipóxia é capaz de diminuir a taxa de diferenciação celular.

A osmolaridade também tem influência na hipertrofia, pois o dano muscular causa alterações no estado metabólico celular resultando em acúmulo de íons sódio, levando mais água para dentro da célula, que aumenta de volume. Este edema atrai as células satélites para o local do trauma, iniciando a recuperação muscular e consequente hipertrofia (BERNEIS, 1999).

A alfa-actinina-3 (ACTN3) é um importante componente das linhas Z das fibras musculares de contração rápida. Um conhecido polimorfismo relacionado à ACTN-3 que resulta em sua deficiência, influencia negativamente a força muscular e o desempenho físico devido à redução de respostas fisiológicas e metabólicas de fibras de contração rápida, ao

passo que a expressão deste gene indica benefícios sobre a capacidade de resistência e resposta adaptativa muscular ao treinamento (SETO et al., 2013). Entretanto, uma metanálise desenvolvida por Alfred et al. (2011) relacionou a expressão do gene ACTN-3 com capacidades atléticas e concluiu que existe uma elevada expressão deste gene em atletas de força ou *sprint*, embora não signifique uma vantagem no desempenho atlético.

A miostatina, outra substância importante na hipertrofia, é um gene que a regula negativamente, pois atua como inibidor do crescimento muscular. Sua existência é controlada pelo gene fator de diferenciação de crescimento-8 e é responsável pelo controle do tamanho dos tecidos corporais. Logo, quanto mais miostatina produzida, menor a capacidade de hipertrofia muscular. Devido a sua importância na produção de massa magra, está intimamente relacionada ao desenvolvimento de obesidade e diabetes. Quanto à relação entre miostatina e exercício de força, alguns autores demonstram inativação da miostatina em função do exercício contra resistido, porém, outros pesquisadores não encontraram resultados significativos (KIM et al., 2007; ALLEN; HITTEL; MCPHERRON, 2011).

Quanto aos fatores hormonais, quatro hormônios participam ativamente do processo da hipertrofia, seja como resposta aos processos de microlesões e hipóxia ou agindo diretamente, o que pode ser exemplificado pela administração oral ou intravenosa de algum destes hormônios, comumente utilizados entre os praticantes de atividade física e atletas (GOTO; SHIODA; UCHIDA, 2013).

O GH é um hormônio liberado pela glândula hipófise em algumas situações específicas, como sono, hipoglicemia, estresse, refeições ricas em proteínas entre outras. Existem duas teorias que explicam a relação deste hormônio com o crescimento muscular. A primeira delas afirma que ao chegar ao fígado, o GH estimula a produção de IGFs, assim como aumenta a quantidade de receptores de IGFs, ampliando sua meia-vida. A segunda teoria é baseada na ação direta do hormônio, estimulando a diferenciação de células satélites. Apesar da existência das duas explicações supracitadas, alguns estudos mostram que o aumento de peso corporal resultante do uso de GH advém de proteínas não contráteis e da retenção de fluidos, não sendo eficiente no aumento de massa magra (LANGE et al., 2002).

Entre as somatomedinas, o IGF-1 tem papel importante na hipertrofia muscular. Este peptídeo pode ser sintetizado no fígado ou em outras células com estrutura química semelhante e mecanismo de ação diferente. Desta forma, o IGF-1 hepático não se relaciona com o ganho de massa magra, já o IGF-1 produzido e liberado intrinsecamente pode levar a hipertrofia muscular principalmente através da regeneração muscular após um treinamento intenso por meio da estimulação das células satélites. É um dos principais fatores para o

crescimento muscular, uma vez que é essencial para o início da transdução por ser um potente estimulador da via Akt-mTOR. Apesar destes achados, questiona-se a real necessidade do IGF-1 para a hipertrofia muscular, uma vez que estudos realizados com ratos deficientes de receptores de IGF-1 nos músculos mantiveram a capacidade de obter ganho de massa magra. Além disso, o aumento de IGF-1 ocasionado pelo treinamento ocorre de 24 a 72 horas após o exercício, enquanto que o aumento de mTOR e a leitura dos códigos genéticos ocorre poucas horas após o exercício físico (SPANGENBURG, 2009).

A insulina é um importante hormônio anabólico, uma vez que é capaz aumentar o volume tecidual e acumular carboidratos, proteínas e lipídeos. Não existe comprovação que o exercício influencie a concentração de insulina, mas já se sabe que este é capaz de elevar a quantidade dos transportadores de glicose nos músculos, além de ativar a lipoproteína lipase, capaz de realizar a β -oxidação dos ácidos graxos, utilizando-os como fonte de energia (TOMÁS; ZORZANO; RUDERMAN, 2002).

A testosterona atua na hipertrofia por mecanismos de ação direta, por meio dos receptores androgênicos. Ao entrar no sarcoplasma, a testosterona liga-se aos seus receptores androgênicos, sendo translocada para o interior do núcleo celular e então este hormônio atua diretamente sobre a atividade nuclear, estimulando diretamente a transcrição do código do DNA, de modo a aumentar a produção de RNAm (SPANGENBURG, 2009). Esta sua característica lipofílica torna a ação da testosterona diferenciada dos hormônios peptídicos em termos de eficácia anabólica (SCHOENFELD, 2010).

A quantidade de receptores androgênicos varia entre os músculos, sugerindo que grupos musculares distintos apresentam sensibilidade androgênica diferente. Por mecanismo indireto, a testosterona estimula a via mTOR, induz proliferação de células satélites, compete com hormônios catabólicos e estimulam a produção de outros hormônios anabólicos (RATAMESS et al., 2005; KADI, 2008).

Tanto a prática de atividade física como a utilização de testosterona exógena em doses supra farmacológicas (600 mg/semana) podem aumentar a expressão destes receptores, fazendo com que maior quantidade de testosterona possa agir. Entretanto, ao comparar os músculos esqueléticos de atletas fazendo uso de esteroides anabólicos androgênicos (EAA) ou não, Kadi et al. (2000) não observaram diferença no percentual de receptores androgênicos. Em oposição a este achado, Ferrando et al. (2002) observaram aumento na expressão dos receptores androgênicos após um mês de tratamento com testosterona, entretanto após seis meses de tratamento, a expressão dos receptores androgênicos retornou aos valores pré-

tratamento. Assim, sugere-se que, ao atingir um estado estável, a expressão dos receptores androgênicos para de responder ao tratamento com EAA.

A testosterona mostrou-se capaz de estimular a fosforilação da proteína-6-kinase-1, essencial para que a mTOR possa executar seu papel na hipertrofia muscular (BASUALTO-ALARCÓN et al., 2013). Enquanto isso, este hormônio age estimulando a atividade mitótica das células satélites (SINHA-HIKIM et al., 2003). Um estudo mostrou que o número de células satélites nos músculos esqueléticos de levantadores de peso que fizeram uso crônico de EAA foi maior do que em homens jovens saudáveis, mas este número assemelhou-se aos levantadores de peso que não utilizaram EAA, sugerindo que a administração de EAA em curto prazo estimula a síntese de novas células satélites, mas seu uso crônico não mantém suas contagens elevadas (KADI, 2000).

A testosterona tem capacidade de inibir a atividade dos hormônios catabólicos glicocorticoides pela competição por receptores hormonais ou por meio de uma interação entre os receptores andrógenos e glicocorticoides. Desta forma, ocorre diminuição da atividade catabólica e consequentemente, a criação de um meio mais propício para a hipertrofia muscular (ZHAO et al., 2004). A literatura também sugere a ação da testosterona no estímulo à síntese de hormônios anabólicos, como o IGF-1 e GH (SERRA et al., 2011).

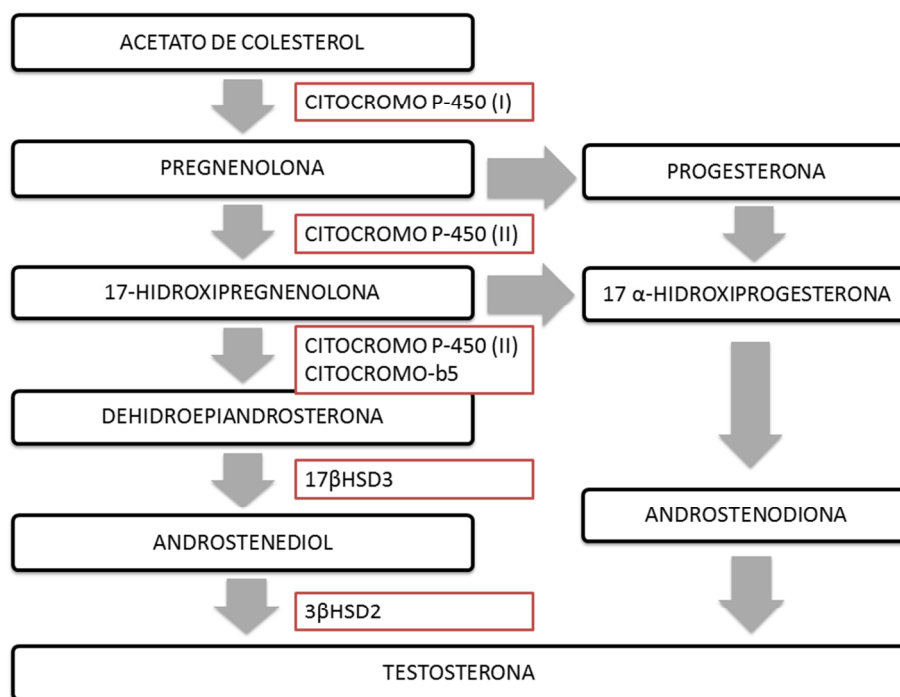
2.3 TESTOSTERONA

A biossíntese endógena da testosterona inicia-se pela ativação do hipotálamo, que produz hormônio liberador de gonadotrofinas, estimulando a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio estimulante das células intersticiais (ICSH – equivalente ao hormônio luteinizante, LH) pela adenohipófise. O FSH é responsável pela integridade dos túbulos seminíferos e pela gametogênese. Já o ICSH age nas células intersticiais, estimulando a liberação de testosterona e uma pequena quantidade de estradiol, que estimulam a gametogênese e controla a sua própria síntese através do processo de *feedback* negativo (SHARIFI; AUCHUS, 2012).

A biossíntese da testosterona inicia-se na mitocôndria, a partir do colesterol, com o citocromo P450 tipo 1, responsável pela conversão de acetato de colesterol em pregnenolona. Esta conversão ocorre em apenas dois tecidos humanos: córtex adrenal e células de Leyding. O citocromo P450 tipo 2, presente no retículo endoplasmático liso das células, sintetiza 17-hidroxipregnenolona a partir da pregnenolona. Em associação com o citocromo b₅, ocorre a conversão de 17-hidroxipregnenolona em dehidroepiandrosterona (DHEA), resultando

também na liberação residual de uma pequena quantidade de 17α -hidroxiprogesterona (SHARIFI; AUCHUS, 2012) (Figura 4).

Figura 4. Biossíntese da testosterona e interconversão dos seus precursores.



Fonte: adaptada de Gebara et al. (2002).

As células de Leyding possuem duas enzimas hidroxisteroides desidrogenases, importantes nas etapas finais da biossíntese da testosterona, por converterem hidroxisteroides em cetoesteroides. A enzima 3β hidroxisteroide desidrogenase (3β HSD2) realiza a etapa de conversão de 3β -hidroxi- Δ^5 em seus 3 -ceto- Δ^4 -congêneres. Também nas células de Lyeding existe a enzima 17β hidroxisteroide desidrogenase (17β HSD3), que estimula a síntese de testosterona em detrimento de DHEA-sulfato. O A5diol, substrato de 17β HSD3, é oxidado ou isomezizado a testosterona pela enzima 3β HSD2, constituindo a última etapa da síntese de testosterona (SHARIFI; AUCHUS, 2012).

Tendo em vista os conhecidos efeitos adversos do uso de testosterona sintética por praticantes de exercício físico, foi proposto no final do século passado que a administração de algum intermediário da cascata de formação da testosterona poderia induzir uma síntese adicional deste hormônio de maneira endógena, e, desta forma, sem os efeitos adversos da administração de testosterona. Estes produtos foram denominados de pro-hormônios, substâncias que são convertidas em testosterona ou seus análogos após a administração. Entre estes, estão DHEA, androstenediona e androstenediol. Entretanto, os efeitos indesejáveis que

resultam do uso destas substâncias são similares aos encontrados em usuários de EAA (BROWN; VUKOVICH; KING, 2006).

A androstenediona foi estudada pela primeira vez em 1999, por King et al., que demonstraram que dose moderada (300 mg) de androstenediona não era capaz de melhorar a força de indivíduos treinados, mas aumentava a concentração plasmática de estradiol e alterava negativamente o perfil lipídico dos usuários, assim como ocorre com o uso de EAA. Entretanto, outro estudo mostrou que apenas 10 a 15% da dose era convertida em testosterona (LEDER et al., 2000). Ao administrar DHEA e androstenediona em homens jovens em protocolos que variaram de dois dias a oito semanas, Ballantyne et al. (2000) não observaram mudanças em relação à testosterona basal. O androstenediol também é utilizado como pro-hormônio, apesar de Broeder et al. (2000) demonstrarem que a administração de 200 mg desta substância durante 12 semanas não leva à maior produção de testosterona, além de não mostrar alterações na massa magra. Diversos estudos da década de 1990 mostraram que a administração de DHEA, androstenediona e androstenediol não são capazes de aumentar a massa magra dos usuários (BHASIN et al., 1996; URBAN et al., 1995; BROWN et al., 1999).

Tendo em vista que substâncias pro-hormonais agem estimulando a síntese endógena de testosterona e que a administração de extrato de MP, que possui esteroide em sua composição, resultou em aumento na concentração de testosterona, é possível enquadrar este produto como um possível pro-hormônio. Muthu e Krishnamoorthy (2011) observaram aumento na testosterona sérica e testicular em animais suplementados com extrato de MP e o associaram com a biossíntese andrógênica, relacionando o uso deste produto com a síntese de hormônios androgênicos.

Outras vias podem sintetizar testosterona, mas em menor concentração que a sequência anteriormente demonstrada. 17-hidroxiprogesterona é reduzida a 5 α -androsterona pela enzima CYP17A1. Na presença de 17 β HSD, forma-se 5 α -androstenediona (AD) que é oxidada a 5 α -dihidrotestosterona (DHT). Nos tecidos periféricos, há uma enorme diversidade de enzimas que mantêm a concentração celular de esteroides e regulam os esteroides específicos (SHARIFI; AUCHUS, 2012).

A síntese de testosterona nestes tecidos periféricos é baseada em reações específicas e irreversíveis: oxigenação do citocromo P450, reduções em 5 α - e 5 β -, reações da enzima 3 β HSD e reações de conjugação. Outras enzimas são responsáveis pelas reações em sentido oposto, hidroxisteroides em cetoesteroides ou cetoesteroides em hidroxisteroides. Como exemplos, a enzima 17 β HSD3 converte AD em testosterona ou 5 α -androstenediona em 5 α -dihidrotestosterona, enquanto a enzima 17 β HSD2 converte testosterona ou DHT em

androstenediona ou 5 α -androstenediona. Estas reações ilustram a complexidade da biossíntese de testosterona nos tecidos periféricos e as possíveis redundâncias fisiológicas presentes neste processo (SHARIFI; AUCHUS, 2012).

Finalmente, a produção de hormônios andrógenos em mulheres ocorre pelas glândulas adrenais e ovários (50% da produção) e pelos tecidos periféricos (50%), como descrita anteriormente. As mulheres são capazes de sintetizar testosterona, androstenediona, dehidroepiandrosterona, sulfato de dehidroepiandrosterona e dehidrotestosterona, sendo a testosterona o principal representante dos hormônios andrógenos. O hormônio adrenocorticotrófico estimula a glândula adrenal, e consequentemente, a secreção de hormônios androgênicos. Já os ovários são estimulados pelo LH e FSH. O LH regula a biossíntese da androstenediona e da testosterona, enquanto o FSH modula a atividade da aromatase, contribuindo para aumentar a conversão de androgênios em estrogênios. Além disso, a conversão de esteroides precursores, originários da adrenal ou dos ovários, em androgênios ativos nos tecidos periféricos é de suma importância. Por esse mecanismo, o sulfato de dehidroepiandrosterona e a androstenediona podem ser convertidos em testosterona e nos tecidos-alvos em DHT. O sistema de *feedback* negativo nas mulheres é ativado pelo cortisol, e não pelos hormônios andrógenos (LABRIE et al., 2000).

2.3.1 Testosterona e exercício físico

O exercício de força resulta em respostas adaptativas agudas do eixo hipotalâmico-hipofisário que englobam o aumento da síntese de hormônios anabólicos (testosterona e GH) associado à diminuição de hormônios catabólicos, como o cortisol. Esta é uma resposta aguda, visto que algumas horas após o treino de força ocorre redução nas concentrações séricas de testosterona, que retornam aos valores basais (SMILIOS et al., 2014). As alterações na biossíntese de testosterona dependem de fatores como intensidade, volume de treino, tipo e ordem dos exercícios executados, além da idade e gênero (VINGREN et al., 2010).

O desequilíbrio entre nutrição, treino e descanso pode levar atletas à síndrome do *overtraining*, caracterizado por uma fadiga crônica, levando à diminuição no desempenho associado a alterações bioquímicas, imunológicas, psicológicas e hormonais (AKCEL-D'ELIA et al., 2010). No estágio inicial do *overtraining*, a hipófise estimula a secreção do hormônio adrenocorticotrófico, resultando em maior liberação de cortisol e diminuição da concentração de testosterona sérica e GH. Em seguida, com o estado de *overtraining*

instalado, ocorre diminuição na resposta do eixo hipotalâmico-hipofisário e redução da concentração de cortisol (BROOKS; CARTER, 2013).

O efeito do treinamento físico na produção de testosterona ainda é controverso. Enquanto alguns autores defendem que estresses tensionais e metabólicos são capazes de elevar a concentração do hormônio, outros afirmam que a melhora no desempenho atlético e hipertrofia muscular não ocorrem devido ao aumento do hormônio, mas sim pelo incremento no número de receptores androgênicos ou ainda por meio da diminuição na densidade dos receptores, o que resulta no acúmulo de testosterona sérica (RATAMESS et al., 2005; KOVACHEVA et al., 2010).

2.3.2 Efeitos adversos do uso de testosterona

O uso da testosterona e outros EAA como um recurso ergogênico – qualquer técnica que envolva treinamento, métodos mecânico, nutricional, farmacológico ou psicológico que levam a incrementos na capacidade de executar exercícios por meio de melhora no desempenho ou nas adaptações ao treinamento (KREIDER et al., 2010) – é um fenômeno muito importante, visto que uma considerável parcela dos indivíduos ativos faz uso desta ferramenta para atingir objetivos de hipertrofia muscular. Estima-se que nos Estados Unidos mais de um milhão de pessoas usam ou já usaram EAA (YESALIS, 2001). No Brasil, a prevalência de uso de EAA na cidade de São Paulo foi de 19% (SILVA; MOREAU, 2003). Em Porto Alegre, 11,1% dos fisiculturistas já haviam utilizado EAA (SILVA et al., 2007), e em Recife esse valor foi de 33,3% (SANTOS; ROCHA; SILVA, 2011). Nogueira et al. (2014) entrevistaram 510 praticantes de atividade física da cidade de João Pessoa e 20,6% afirmaram que usavam ou já haviam utilizado EAA. É importante ressaltar que estes dados tendem a ser subestimados, já que o uso destes produtos é geralmente omitido por ser ilegal.

O uso exacerbado destes hormônios, por meio de estratégias de administração que ultrapassam a concentração recomendada em âmbito clínico, resulta em efeitos adversos indesejáveis inevitáveis em diversos sistemas, uma vez que os receptores de hormônios androgênicos encontram-se distribuídos em todo o organismo. Geralmente, as consequências do uso dos esteroides anabolizantes são graves e irreversíveis (TURILLAZZI et al., 2008).

Entre os efeitos adversos causados por dosagens suprafarmacológicas dos EAA, observam-se câncer de fígado, dores ósseas, hipertrofia prostática, cefaleia grave e morte (HAJIMORADI; KAZERANI, 2013). Além destes, há alterações específicas nas características de homens e mulheres. Usuários do gênero masculino podem apresentar

redução dos testículos, diminuição na contagem de espermatozoides, impotência, infertilidade, calvície, ginecomastia, dificuldade ou dor para urinar e aumento da próstata. Já nas mulheres, ocorre desenvolvimento de pelos faciais, alterações no ciclo menstrual, aumento do clitóris, agravamento da voz e redução dos seios (AAGAARD, 2004). Também foram descritos como efeitos colaterais indesejados as mudanças de comportamento, a exemplo da síndrome comportamental de risco, atos agressivos, crimes contra a propriedade, irritabilidade, raiva, hostilidade, distração, esquecimento, confusão, narcisismo patológico, esquizofrenia aguda, paranoia e depressão, podendo culminar com o suicídio. Os EAA também causam dependência, e consequentemente, provocam síndrome de abstinência (OBERLANDER; HENDERSON, 2012).

2.3.2.1 Efeitos adversos sobre o estresse oxidativo, perfil lipídico e função hepática

O sistema cardiovascular é bastante estudado quanto aos efeitos dos EAA. Entre os usuários de EAA, observam-se complicações cardíacas como insuficiência cardíaca, fibrilação ventricular, trombozes, doença isquêmica, infarto agudo do miocárdio, além de morte súbita em decorrência do uso crônico (THIBLIN; LINDQUIST; RAJS, 2000).

Uma das explicações para estas complicações é uma possível alteração na função endotelial, associada a estresse oxidativo e inflamação sistêmica, que participam do desenvolvimento de patologias cardiovasculares. Ammar, Said e Hassan (2004) avaliaram o efeito do uso de EAA na função vascular e observaram que a síntese de substâncias vasodilatadoras parecia estar comprometida. Em um estudo com animais, foi observado que o grupo tratado com nandrolona demonstrou redução no relaxamento dependente de endotélio e ativação da guanilato ciclase, diminuindo a produção de guanosina monofosfato cíclico, resultado em menor relaxamento do músculo liso vascular (CUNHA et al., 2005).

Em um estudo realizado com ratos, Pey et al. (2003) observaram aumento no estresse oxidativo hepático ao administrar 2 mg de testosterona/kg de peso corporal. Este tipo de estresse oxidativo está relacionado à produção de proteína C-reativa, um importante agente pró-inflamatório associado à disfunção vascular, hipertensão arterial e doenças isquêmicas (MORTENSEN et al., 2012).

O metabolismo das lipoproteínas também é prejudicado pelo uso de EAA. O seu uso prolongado pode estimular a agregação plaquetária e aumentar a atividade da lipase triglicéridica hepática, acarretando em uma diminuição nos níveis plasmáticos de HDL-colesterol, (MONROE; DOBS, 2013). Estudos mostram que mesmo o uso de doses

fisiológicas de EAA (200 mg/semana) já resulta em leve diminuição na concentração de HDL-colesterol, ao passo que o uso prolongado, em doses elevadas e associando entre três e nove drogas diferentes leva a uma queda de mais da metade de HDL-colesterol (HARTGENS, 2004). Associado a este problema, Hartgens (2004) também observou diminuição da apolipoproteína A1, que atua no processo de síntese do HDL-colesterol. A administração de uma dose única de 500 mg de testosterona foi capaz de aumentar o colesterol total em 15%, além de aumentar RNAm e a expressão de proteínas relacionadas à enzima HMG-CoA redutase, responsável pela síntese de colesterol hepático (GÅREVIK et al., 2012). No entanto, dados reportando aumento do colesterol total ou LDL-colesterol são bem menos conclusivos que a redução já bem demonstrada no HDL-colesterol.

O desenvolvimento de doenças hepáticas em usuários de EAA é bem documentado e bastante frequente, variando de leves alterações nas transaminases até lesões degenerativas e adenomas hepatocelulares (SOCAS, 2005). Em um estudo utilizando modelos animais que receberam EAA em dose moderada ou elevada, observou-se aumento na concentração de AST, ALT e alcalina fosfatase, independente da dosagem utilizada (VIEIRA et al., 2008).

Um estudo de caso descreveu dois usuários de EAA que desenvolveram colestase hepática após o consumo destes produtos. Os indivíduos eram homens jovens com lesões colestáticas graves devido ao uso de EAA. Apesar de este tipo de lesão estar associado à elevada mortalidade, os jovens recuperaram-se sem necessidade de um transplante de fígado (KAFROUNI; ANDERS; VERMA, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE PESQUISA

A pesquisa constitui um estudo experimental, que analisa relações de causa e efeito através de associações em grupos de animais que foram randomizados, sendo expostos ou não ao tratamento. Como foram utilizados modelos experimentais animais, o estudo é considerado um ensaio pré-clínico (ALMEIDA FILHO; ROUQUAYROL, 2006).

3.2 PREPARAÇÃO DA FARINHA E DO EXTRATO DE *MUCUNA PRURIENS*

As sementes de MP foram obtidas no comércio local da cidade de João Pessoa (Paraíba). Para elaboração da farinha, as sementes foram lavadas duas vezes em água corrente e em seguida foram secas com papel absorvente à temperatura ambiente, trituradas em moinho e peneiradas, até obter-se um pó fino, que foi mantido em estufa de secagem a 50°C durante 96 horas. O extrato foi obtido por extração hidroalcoólica adicionando-se 200 mL de água destilada e 200 mL de álcool em 100 g da farinha seca. Esta mistura foi homogeneizada durante 72 horas e depois peneirada para retirar os resíduos sólidos, sendo então levada ao banho-maria a 45°C por aproximadamente 24 horas, até formar um material de consistência cremosa e coloração bege-amarronzada (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011; SURESH; PRITHIVIRAJ; PRAKASH, 2009). O extrato foi congelado para em seguida realizar liofilização por 24 horas a -48°C e pressão de 130 µmHg em liofilizador modelo L101 (Liotop, São Carlos, São Paulo, Brasil). Este processo foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular, Estrutura e Oncogenética do Departamento de Biologia Molecular e no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos do Departamento de Nutrição da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

3.3 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA E DO EXTRATO DE MP

3.3.1 Composição nutricional da farinha e do extrato de MP

3.3.1.1 Composição centesimal

Todas as análises de composição centesimal foram realizadas em triplicata. Foram realizadas as análises de umidade por secagem em estufa a 105°C, cinzas por incineração em forno mufla a 550 °C, o percentual de proteína foi obtido utilizando-se o método de Kjeldhal e a metodologia de Soxhlet foi utilizada para a extração e determinação de lipídeos totais. (AOAC, 2002). A quantidade de carboidrato foi estimada através da diferença dos valores médios obtidos. Foi realizada a determinação de fibra bruta de acordo com a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

3.3.1.2 Perfil de ácidos graxos

Inicialmente obteve-se o extrato lipídico pelo método de Folch et al. (1957) e a partir deste extrato foram obtidos os ésteres metílicos mediante esterificação (HARTMAN; LAGO, 1973). A identificação e quantificação dos ésteres metílicos foram realizadas em cromatógrafo a gás de modelo CG-Master (Ciola & Gregori Ltda, São Paulo, Brasil), com um detector de ionização por chama. As condições cromatográficas foram: coluna de polietilenoglicol (Carbowax 20M), de sílica fundida, com 30 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura da película de fase estacionária. As temperaturas utilizadas foram: vaporizador: 150 °C, detector: 200 °C e programação do forno: 80°C por 3 minutos, 10 °C/minuto até 120 °C, permanecendo em 200 °C durante 6 minutos, posteriormente decaindo 3 °C/minuto até 180°C. A fase móvel foi hidrogênio, com uma vazão de 5 mL/minuto. O volume injetado foi de 1 µL, com uma razão de divisão de 1:25. A caracterização dos ácidos graxos foi realizada por comparação do espectro de massas obtido com aquele de padrões que também foram injetados no cromatógrafo.

3.3.1.3 Composição mineral

A análise dos minerais presentes na MP foi realizada através de espectrometria de fluorescência de raios x de energia dispersiva (TEIXEIRA et al., 2012). Inicialmente, as amostras foram secas em estufa a 75°C por uma hora em vidros relógios. Em seguida, as amostras foram colocadas em portas-amostra próprios do aparelho *Energy Dispersive X-ray Spectrometer* (Modelo EDX-720, Japão). Os mesmos foram lacrados em ambas as extremidades com filmes finos de polipropileno e em uma das extremidades foi aberto um orifício para evitar extrusão de amostras ao acionar o vácuo, para então serem analisadas em EDX.

3.3.1.4 Screening fitoquímico

Foi realizado *screening* fitoquímico do extrato de MP para presença de flavonoides, saponinas, taninos, esteróis e alcaloides, segundo a metodologia proposta por Matos (2009).

Para a detecção dos flavonoides, adicionou-se clorofórmio para separação das camadas. Em seguida, adicionou-se metanol e foi realizada a evaporação em rota-vapor. O material dissolvido foi distribuído em dois tubos de ensaios, onde se adicionou solução de HCl a 10% e fita de magnésio, deixando reagir até desaparecer a fita e observando o aparecimento de coloração rósea (teste positivo). No segundo tubo foram adicionados acetona, ácido oxálico e ácido bórico. A mistura foi seca em banho-maria, adicionou-se éter etílico e observou-se a fluorescência em espectrofotômetro ultravioleta a um comprimento de onda de 510 nm (Biospectro, modelo SP-220/Brasil).

A análise qualitativa de saponina foi realizada através do teste de espuma, que consistiu em dissolver a amostra em água em um tubo de ensaio, agitando por 1 minuto e deixando em repouso por 10 minutos. Após o repouso, observou-se se houve o desaparecimento da espuma, o que caracteriza teste negativo para este fitoquímico.

O teste de taninos foi realizado com a evaporação das amostras até secagem completa, filtrando em funil com algodão. O filtrado foi distribuído em seis tubos de ensaios, sendo os três primeiros testados com gelatina a 0,5% e os outros, com cloreto de ferro a 2% em diferentes concentrações (0,5, 1,0 e 2,0 mL), sendo observada se houve a formação de precipitados, o que indica a presença de taninos.

Para a análise de esteroides foi realizada a evaporação das amostras até secagem completa, adicionando clorofórmio para a dissolução. Em seguida, as amostras foram distribuídas em três tubos de ensaios com 0,12, 0,25 e 0,5 mL. Em cada tubo foi adicionado clorofórmio, anidrido acético e ácido sulfúrico concentrados. Os resultados foram observados de acordo com o padrão de coloração, onde a cor azul indicou a presença de esteroides.

A análise qualitativa de alcaloides foi realizada mediante a evaporação do extrato alcoólico até secagem completa, alcalinizando-se com hidróxido de sódio a 1%. Adicionou-se água destilada com clorofórmio, o sistema foi filtrado com algodão e o extrato foi separado da camada clorofórmica. Em seguida, foi adicionado ácido clorídrico a 1% à camada clorofórmica, agitando e deixando decantar até ficar límpido. Posteriormente, foi distribuído em quatro tubos de ensaios 1 mL da camada de HCl, seguindo-se de testes com os reagentes: Bouchardat, Mayer, Dragendorff e ácido sílico tungstico, sendo observada a formação de precipitado em caso positivo.

3.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A preparação prévia das amostras de extrato e farinha de MP para análise microbiológica consistiu em homogeneizar os produtos em água peptonada tamponada a 0,1%, de onde foram elaboradas diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . A qualidade microbiológica da farinha e do extrato de MP foi avaliada mediante enumeração de Coliformes a 35°C, Contagem Padrão em Placas de Bactérias Aeróbias Mesófilas, Bolores e Leveduras, *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella* spp (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.5 ANIMAIS E SUPLEMENTAÇÃO

O trabalho experimental foi iniciado após aprovação do projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da UFPB (CEUA – Cbiotec), sob o número 0511/12 (ANEXO 1).

Foram utilizados 35 ratos machos da linhagem Wistar, com 80 dias de vida e peso corporal médio de $305 \pm 4,17$ g. Estes animais foram obtidos no biotério do Laboratório de Estudos em Nutrição e Instrumentação Biomédica do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco e transportados até o Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição da UFPB, onde estes foram mantidos sob condições padrões de iluminação (ciclo claro/escuro, 12/12 horas) e temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). Os ratos foram alocados em gaiolas de polipropileno com quatro ou cinco animais em cada caixa. Durante todo o experimento, os animais receberam água destilada e ração comercial *ad libitum* (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011).

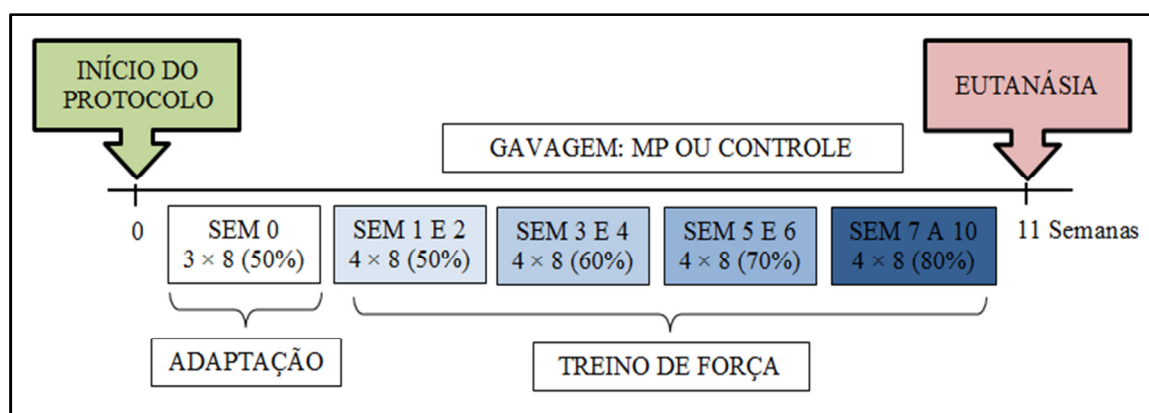
Os ratos foram randomizados em quatro grupos de nove animais: Controle + Sedentarismo (CS), Suplementação de MP + Sedentarismo (MPS), Controle + Treinamento Físico (CT), Suplementação de MP + Treinamento Físico (MPT). Os animais alocados para os grupos com suplementação de MP receberam 250 mg do extrato de MP/kg de peso corporal/dia diluído em volume fixo de 1 mL de água destilada durante dez semanas via gavagem. Os demais animais, que compuseram o grupo controle, receberam 1 mL de água destilada diariamente, também durante dez semanas, por gavagem (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011).

3.6 PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO

Concomitantemente com as dez semanas de suplementação, os animais que haviam sido alocados para os grupos com treinamento físico foram submetidos a um programa de treinamento de saltos, constituindo uma modalidade de exercício resistido, de acordo com os métodos propostos por Renno et al. (2007) e Marqueti et al. (2006). As sessões de treinamento foram realizadas em cilindros de plástico de policloreto de vinil com 25 cm de diâmetro e 70 cm de profundidade, preenchidos até 60% com água a $32\pm 2^{\circ}\text{C}$. O treinamento físico era realizado três vezes por semana, no período da manhã. A água era trocada para cada animal, para evitar influência comportamental (KELLIHER et al., 2000).

Inicialmente, os animais foram submetidos a uma semana de adaptação, que consistiu na execução de três sessões compostas por três séries de oito saltos com sobrecarga de 50% do peso corporal e intervalos de 30 segundos entre as séries. Passadas setenta e duas horas do último treino de adaptação, foi iniciado o protocolo de treinamento, constituído por quatro séries de oito saltos, intervalados por 30 segundos, durante dez semanas. Nas duas primeiras semanas, a sobrecarga correspondeu a 50% do peso corporal dos animais. Na 3ª e 4ª semanas, a sobrecarga foi de 60% do peso corporal; na 5ª e 6ª semanas, 70%; e nas quatro últimas semanas, 80% do seu peso (RENNO et al., 2007; MARQUETI et al., 2006). A carga foi imposta aos animais utilizando-se coletes apropriados (FERREIRA et al., 2001; CASSIMIRO-LOPES et al., 2008). O protocolo de treinamento está apresentado na Figura 5.

Figura 5. Protocolo de treinamento de força realizado por ratos treinados suplementados ou não com MP.



A semana de adaptação (SEM 0) foi constituída de três séries de oito saltos com sobrecarga de 50% do peso corporal do animal e intervalos de 30 segundos. Nas semanas seguintes (1 a 10), o treino de força foi composto por quatro séries de oito saltos com aumentos gradativos na sobrecarga (de 50% a 80%) e nestas semanas foi realizada a gavagem. A eutanásia ocorreu 48 horas após a última sessão de treino. Fonte: própria, 2014.

Após a semana de adaptação ao treinamento físico, os animais começaram a ser suplementados com MP ou água destilada por dez semanas. Neste período, realizaram o protocolo de treinamento de saltos. Ao final deste período, os animais foram eutanasiados para as avaliações subsequentes.

3.7 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E DA MASSA CORPORAL

O consumo alimentar foi calculado semanalmente, no mesmo dia e horário, sendo representado pela diferença, em gramas, entre o alimento oferecido e o residual. Para essa determinação utilizou-se a fórmula: consumo = quota oferecida – (rejeito sujo + rejeito limpo). Foi considerado rejeito sujo o alimento que não foi ingerido e ficou na área interna do comedouro, e rejeito limpo o alimento que não foi ingerido e permaneceu na área externa (VADIVEL; PUGALENTHI, 2010).

A massa corpórea dos animais foi verificada semanalmente, no mesmo dia e horário. Para esta pesagem foi utilizada balança analítica (Mettler, Suíça) – precisão: 0,1 g, capacidade máxima: 2610 g.

3.8 EUTANÁSIA

A eutanásia foi realizada após 48 horas do término da última sessão de treinamento, estando os animais em jejum de 12h. Os animais foram anestesiados com quetamina (25 mg/kg) associado com xilazina (25 mg/kg), por via intramuscular. Posteriormente, os animais foram eutanasiados por retirada sanguínea através do plexo braquial, de acordo com os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

3.9 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Imediatamente após coletadas, as amostras sanguíneas foram centrifugadas a 8,3 xg por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado e refrigerado a -20° C até as análises, que ocorreram no máximo uma semana depois da coleta para todas as variáveis.

As análises de colesterol total e fração de lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triglicerídeos (TG), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e creatina quinase (CK) foram feitas através de kits comerciais específicos da marca Labtest® (Minas Gerais, Brasil) de acordo com as instruções do

fabricante. As análises foram realizadas em um analisador bioquímico automático Labmax 240 (Minas Gerais, Brasil) ou espectrofotômetro ultravioleta (Biospectro, modelo SP-220/Brasil). Os valores das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) e muito baixa densidade (VLDL-c) foram estimadas pela equação de Friedewald, Levy e Fredrickson (1972) [$LDL-C = (CT - HDL-C) - (TG/5)$].

A atividade oxidante foi quantificada por meio da reação do ácido tiobarbitúrico, com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos. O soro foi incubado em banho maria a 37° por 60 minutos e a mistura precipitada com ácido perclórico à 35% e centrifugada a 14000 rpm por 10 minutos à 4°C. O sobrenadante foi transferido para novas alíquotas e adicionado 400µL de ácido tiobarbitúrico a 0,6% e incubado a 95 – 100° C por 60 minutos. Após o resfriamento, o material foi lido em espectrofotômetro ultravioleta a um comprimento de onda de 532 nm, em temperatura ambiente.

A testosterona foi dosada por meio das técnicas de quimioluminescência e imunoensaio, através de eletroquimioluminescência no plasma, de acordo com o procedimento proposto pelo kit comercial utilizado (Gênese Produtos Diagnósticos, Cambuci, São Paulo).

3.10 ANÁLISES DE TECIDOS E ÓRGÃOS

Após a eutanásia e a coleta sanguínea, toda a gordura visceral dos animais foi retirada, pesada e descartada. Fígado e testículos foram retirados, lavados em água destilada, secos em papel absorvente, pesados e descartados. As carcaças dos animais foram congeladas a -20°C para análises futuras.

3.11 ABSORTOMETRIA DE FEIXE DUPLO DE RAIOS-X (DEXA)

Após a eutanásia, as carcaças dos animais foram congeladas e mantidas a -20 °C até a análise de DEXA, realizada com o equipamento modelo Hologic QDR WI (Hologic inc., Waltham, MA). A dose de radiação recebida pelos animais foi menor do que 1,0 mRem. O equipamento realizou escaneamentos transversos do corpo a intervalos de 1 cm da cabeça aos pés, utilizando aproximadamente seis minutos para a medida completa. A composição corporal foi estimada dividindo o corpo em regiões anatômicas e os resultados foram expressos em gramas de massa magra e de gordura e percentual de gordura corporal (MOREAU et al., 2011).

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de composição centesimal foram apresentados como média e desvio padrão da média e foram submetidos ao teste t de *Student* em nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Os demais resultados foram apresentados como média e erro padrão da média. Sendo considerados normais, a análise de análise de variância (ANOVA) *one way* foi adotada para comparar diferenças entre os grupos. Foi utilizado *post-hoc* de Tukey, adotando-se nível de confiança de 5% para estes testes. Estes procedimentos foram realizados no software Instat 3.0.1 (Garph Pad Insta, San Diego, CA, USA).

REFERÊNCIAS

- AAGAARD P. Making muscles “stronger”: exercise, nutrition, drugs. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, v. 4, n. 2, p. 165-74, 2004.
- ACKEL-D’ELIA, C et al. Absence of the predisposing factors and signs and symptoms usually associated with overreaching and overtraining in physical fitness centers. **Clinics**, v. 65, n. 11, p. 1161-1166, 2010.
- ADAMS, G. R. et al. Cellular and molecular responses to increased skeletal muscle loading after irradiation. **American Journal of Physiology – Cell Physiology**, v. 283, n. 4, p. C1182-C1195, 2002.
- AGUIYI, J. C. et al. Blood chemistry of rats pretreated with *Mucuna pruriens* seed aqueous extract MP101UJ after *Echis carinatus* venom challenge. **Phyoterapy Research**, v. 15, n. 8, p. 712-714, 2001.
- AHMAD, M. K. et al. Effect of *Mucuna pruriens* on semen profile and biochemical parameters in seminal plasma of infertile men. **Fertility and Sterility**, v. 90, n. 3, p. 627-635, 2008.
- AHMAD, N. et al. Testosterone like activity of ethanolic and aqueous extracts of *Mucuna pruriens* seeds and its effects on serum biochemical metabolites in immature male rats. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 32, n. 1, p.60-64, 2012.
- ALFRED, T. et al. ACTN3 genotype, athletic status, and life course physical capability: meta-analysis of the published literature and findings from nine studies. **Human Mutation**, v. 32, n.9, p. 1008-1018, 2011.
- ALLEN, D. L.; HITTEL, D. S.; MCPHERRON, A. C.. Expression and function of myostatin in obesity, diabetes, and exercise adaptation. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 10, p. 1828-1835, 2011.
- ALMEIDA FILHO, N.; ROUQUAYROL, M. Z. **Introdução à epidemiologia**. Rio de Janeiro: Medsi, 2006.
- AMMAR, E. M.; SAID, S. A.; HASSAN, M. A. Enhanced vasoconstriction and reduced vasorelaxation induced by testosterone and nandrolone in hypercholesterolemic rabbits. **Pharmacological Research**, v. 50, n. 3, p. 253-259, 2004.
- AOAC. **Official Methods of Analysis**, 17 ed. Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, 2002.
- BALA, V. et al. Anti-inflammatory, diuretic and antibacterial activities of aerial parts of *Mucuna pruriens* Linn. **International Journal of Pharmacology**, v. 7, n. 4, p. 498-503, 2011.
- BALLANTYNE, C. S. et al. The acute effect of androstenedione supplementation on health young males. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 25, n. 1, p. 68-78, 2000.

BASUALTO-ALARCÓN, C et al. Testosterone signals through Mtor and androgen receptor to induce muscle hypertrophy. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 45, n. 9, p. 1712-1720, 2013.

BERNEIS, K. Effects of hyper and hypoosmolality on whole body protein and glucose kinetics in human. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 276, n. 1, p. E188-E195, 1999.

BETANCUR-ANCONA, D. et al. Some physicochemical and antinutritional properties of raw flours and protein isolates from *Mucuna pruriens* (velvet bean) and *Canavalia ensiformis* (Jack bean). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, 2008.

BHASIN, S. et al. The effect of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. **The New England Journal of Medicine**, v. 335, p. 1-7, 1996.

BROEDER, C. E. et al. The Andro Project: physiological and hormonal influences of androstenedione supplementation in men 35 to 65 years old participating in a high-intensity resistance training program. **Archives of Internal Medicine**, v. 160, n. 20, p. 3093-3104, 2000.

BROOKS, K. A.; CARTER, J. G. Overtraining, exercise and adrenal insufficiency. **Journal of Novels Physiotherapies**, v. 3, n. 125, p. 11717-11727, 2013.

BROWN, G. A. et al. Effect of oral DHEA on serum testosterone and adaptations to resistance training in young men. **Journal of Applied Physiology**, v. 87, n. 6, p. 2271-2283, 1999.

BROWN, G. A.; VUKOVICH, M; KING, D.S. Testosterone prohormone supplements. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 38, n. 8, p. 1451-1461, 2006

CASSIMIRO-LOPES, G. et al. Maximum acute exercise tolerance in hyperthyroid and hypothyroid rats subjected to forced swimming. **Hormone and Metabolic Research**, v. 40, n. 4, p. 276-280, 2008.

CLARKSON, P. M.; HUBAL, M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. **American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 81, n. 11 (suppl), p. S52-S69, 2002.

CUNHA, T. S., et al. Vascular sensitivity to phenylephrine in rats submitted to anaerobic training and nandrolone treatment. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 1010-5, 2005.

DEFREITAS, J. M. et al. An examination of the time course of training-induced skeletal muscle hypertrophy. **European Journal of Applied Physiology**, v. 11, n. 11, p. 2785-2790, 2001.

EZE, E. D. et al. Changes in lipid profile of rats administered with ethanolic leaf extract of *Mucuna pruriens* (Fabaceae). **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 2, p. 130-136, 2012.

FERRANDO, A. A. et al. Testosterone administration to older men improves muscle function: molecular and physiological mechanisms. **American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism**, v. 282, n. 3, p. 601-607, 2002.

FERREIRA, L. D. M. C. et al. Effect of streptozin-induced diabetes on glycogen resynthesis in fasted rats ost high intensity exercise. **American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism**, v. 280, n.1, p. E83-E91, 2001.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ltracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GÅREVIK, N., et al. Single dose testosterone increases total cholesterol levels and induces the expression of HMG CoA reductase. Substance abuse treatment, prevention, and policy, **BioMed Central Ltd.**, v.7, n. 1, p., 12, 2012.

GEBARA, O. C. E., et al. Efeitos cardiovasculares da testosterona. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, n. 6, p. 644-649, 2002.

GLASS, D. J. Skeletal muscle 44ypertrophy and atrophy signaling pathways. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, n. 10, p. 1974-1984, 2005.

GOTO, K; SHIODA, K.; UCHIDA, S. Effect of 2 days of intensive resistance training on appetite-related hormone and anabolic hormone responses. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 33, n. 2, p. 131-136, 2013.

GUPTA, A et al. A proton NMR study on the effect of *Mucuna pruriens* on seminal plasma metabolites of infertile males. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 5, p. 1060-1066, 2011.

HAJIMORADI, B; KAZERANI, H. Echocardiographic findings in power athletes abusing anabolic androgenic steroids. **Asian Journal of Sports Medicine**, v. 4, n. 1, p. 10-14, 2013.

HAMMERTON, J. *Mucuna pruriens*: weed, invasive, or multi-use crop for the Bahamas? **College of the Bahamas Research Journal**, v. 12, n. 1, p. 4-15, 2003.

HARTGENS, F. Effects of androgenic-anabolic steroids on apolipoproteins and lipoprotein (a). **British Journal of Sports Medicine**, v. 38, n. 3, p. 253–259, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4 ed. Instituto Adolfo Lutz: São Paulo, 2005.

KADI, F. Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids. **Acta Physiologica Scandinavica – Supplement**, v. 646, p. 1-52, 2000.

KADI, F. Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 3, p. 522-528, 2008.

KADI, F et al. The expression of androgen receptors in human neck and limb muscles: effects of training and self-administration of androgenic–anabolic steroids. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 113, n. 1, p. 25–29, 2000.

KAFROUNI, M. I.; ANDERS, R. A.; VERMA, S. Hepatotoxicity associated with dietary supplements containing anabolic steroids. **Clinical Gastroenterology and Pathology**, v. 5, n. 7, p. 809-812, 2007.

KELLIHER, P. et al. Varying response to the rat forced-swim test under diurnal and nocturnal conditions. **Physiology & Behavior**, v. 69, n. 4-5, p. 531-539, 2000.

KIM, et al. Load-mediated downregulation of myostatin Mrna is not sufficient to promote myofiber hypertrophy in humans: a cluster analysis. **Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 5, p. 1488-1495, 2007;

KING D. S., et al. Effect of oral androstenedione on serum testosterone and adaptations to resistance training in young men a randomized controlled trial. **The Journal of American Medical Association**, v. 281, n. 21, p. 2020-2028, 1999.

KOVACHEVA, E.L. et al. Testosterone supplementation reverses sarcopenia in aging through regulation of myostatin, c-Jun NH2-terminal kinase, Notch, and Akt signaling pathways. **Endocrinology**, v. 151, n. 2, p. 628-638, 2010.

KREIDER, R. B. et al. ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 7, n. 7, p. 1-43, 2010.

LABRIE, F. et al. Role of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid formation in peripheral intracrine tissues. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 11, n. 10, p. 421-427, 2000.

LANGE, K. H. et al. GH administration changes myosin heavy chain isoforms in skeletal muscle but not augment muscle hypertrophy, either alone or combined with resistance exercise training in healthy elderly men. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 281, n. 2, p. 513-523, 2002

LEDER B. Z., et al.. Oral androstenedione administration and serum testosterone concentrations in young men. **The Journal of American Medical Association**, v. 283, n. 6, p. 779-782, 2000.

MAHAJANI, S. S. et al. Bioavailability of L-DOPA from HP-200-a Formulation of Seed Powder of *Mucuna pruriens* (Bak): a Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study. **Phytotherapy Research**, v. 10, p. 254-256, 1996.

MAJEKODUNMI, S. O. et al. Evaluation of the anti-diabetic properties of *Mucuna pruriens* seed extract. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.4, n. 8, p. 632-636, 2011.

MANALISHA, D.; CHANDRA, K. J. Preliminary phytochemical analysis and acute oral toxicity study of *Mucuna pruriens* Linn. In albino mice. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 2, p. 181-183, 2012.

MARQUETI, R. C. et al. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect remodeling of the Achilles tendon in rats. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 34, n. 8, p. 1274-1280, 2006.

MATOS, F. J. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.

MONROE, A. K.; DOBS, A. S. The effects of androgens on lipids. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 20, n. 2, p. 132-139, 2013.

MOREAU, M. F. et al. Lean, fat and bone masses are influenced by orchidectomy in the rat. A densitometric X-ray absorptiometric study. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, v. 1, n. 3, p. 209-213, 2001.

MORTENSEN, C., et al. High-sensitivity C-reactive protein levels predict survival and are related to haemodynamics in alcoholic cirrhosis. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 24, n. 6, p. 619-26, 2012.

MUTHU, K.; KRISHNAMOORTHY, P. Evaluation of androgenic activity of *Mucuna pruriens* in male rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 66, p. 15017-15019, 2011.

NATUSVITA. Natusvita Laboratórios de Manipulação Ltda. Disponível em: <http://www.natusvita.com.br/ListaProdutos.asp?IDLoja=13089&IDProduto=3852329>. Acesso em: 15 de março de 2014.

NOGUEIRA, F. R. S. N. et al. Prevalence of anabolic steroids in bodybuilders gym in the city of João Pessoa-PB: anabolic agents in academies. **Gazzeta Medica Italiana Archivio Para Las Ciencias Médicas**, v. 173, n. 1-2, 2014.

NWAOGUIKPE, R. N.; BRAIDE, W.; C. O., UJOWUNDU. The effects of processing on the proximate and phytochemical compositions of *Mucuna pruriens* seeds (velvet beans). **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 10, n. 10, p. 947-951, 2011.

OBERLANDER, J. G.; HENDERSON, L. P. The Sturm Und Drang of anabolic steroid use: angst, anxiety, and aggression. **Trends in Neurosciences**, v. 35, n. 6, p. 382-392, 2012.

ORR, A. W. et al. Mechanisms of mechanotransduction. **Developmental Cell**, v. 10, n. 1, p. 11-20, 2006.

PEY, A., et al. Effects of prolonged stanozolol treatment on antioxidant enzyme activities, oxidative stress markers, and heat shock protein HSP72 levels in rat liver. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 87, n. 4-5, p. 269-77, 2003.

QIN, L. et al. Mechano growth factor (MGF) promotes proliferation and inhibits differentiation of porcine satellite cells (PSCs) by down-regulation of key myogenic transcriptional factors. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 310, n. 1, p. 221-230, 2012.

RAINA, A. P.; TOMAR, J. B.; DUTTA, M. Variability in *Mucuna pruriens* L. germplasm for L-Dopa, an anti parkinsonian agent. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, n. 6, p. 1207-1212, 2012.

RATAMESS, N. A. et al. Androgen receptor content following heavy resistance exercise in men. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 93, n. 1, p. 35-42, 2005.

- REN, H.; ACCILI, D.; DUAN, C. Hypoxia converts the myogenic action of 47ypertr-like growth factors into mitogenic action by differentially regulating multiple signaling pathways. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 13, p. 5857-5862, 2010.
- RENNO, A. C. M. et al. The effects of a progressive loading exercise program on femoral physical properties and strength of osteopenic rats. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 15, n. 5, p. 276-279, 2007.
- SANTOS, A.; ROCHA, M.; SILVA, M. Illicit Use and Abuse of Anabolic-Androgenic Steroids Among Brazilian Bodybuilders. **Substance Use & Misuse**, v.2, n. 46, p. 724-748, 2011.
- SCHOENFELD, B. J. The mechanisms of muscle 47ypertrophy and their application to resistance training. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 24, n. 10, p. 2857-2872, 2010.
- SERRA, C. et al. The role of GH and IGF-1 in mediating anabolic effects of testosterone on androgen-responsive muscle. **Endocrinology**, v. 152, n. 1, p. 193-206, 2011.
- SETO, J. T. et al. ACTN3 genotype influences muscle performance through the regulation of calcineurin signaling. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 10, p. 4255-4263, 2013.
- SHAHAJI, P. S.; PARNU, S. A. Estrogenic activity of *Mucuna pruriens* in swiss albino mice. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 4, p. 191-193, 2011.
- SHARIFI, N; AUCHUS, R. J. Steroid biosynthesis on prostate cancer. **Steroids**, v. 77, n. 7, p. 719-726, 2012.
- SILVA, A. S. et al. **Musculação: aspectos fisiológicos e nutricionais**. João Pessoa: Editora Universitária da UFPB, 2010.
- SILVA, P. et al.. Prevalence of the use of anabolic agents among strength training apprentices in Porto Alegre,RS. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 1, p. 104-110, 2007.
- SILVA, S. M. F. S.; MOREAU, R. L. M. Uso de esteroides anabólicos androgênicos por praticantes de musculação de grandes academias na cidade de São Paulo. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, n. 3, p. 327-333, 2003.
- SINHA-HIKIM, I et al. Testosterone-induced muscle hypertrophy is associated with an increase in satellite cell number in healthy, young men. **American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism**, v. 285, n. 1, p. E197-E205, 2003.
- SMILIOS, I. et al. Hormonal response after resistance exercise performed with maximum and submaximum movement velocities. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 39, n. 3, p. 351-357, 2014.

- SOCAS, L. et al. Hepatocellular adenomas associated with anabolic androgenic steroid abuse in bodybuilders: a report of two cases and a review of the literature. **British Journal of Sports Medicine**, v. 39, n. 5, p. 1-4, 2005.
- SPANGENBURG, E. E. Changes in muscle mass with mechanical load: possible cellular mechanisms. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 34, n. 3, p. 328-355, 2009.
- SURESH, S.; PRITHIVIRAJ, E.; PRAKASH, S. Dose- and time-dependent effects of ethanolic extract of *Mucuna pruriens* Linn. Seed on sexual behavior of normal male rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 3, p. 497-501, 2009.
- THARAKAN, B. et al. Anti-Parkinson botanical *Mucuna pruriens* prevents levodopa induced plasmid and genomic DNA damage. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 12, p. 1124-1126, 2007.
- THIBLIN, I.; LINDQUIST, O.; RAJS, J. Cause and manner of death among users of anabolic androgenic steroids. **Journal of Forensic Sciences**, v. 45, n. 1, p. 16-23, 2000.
- TOMÁS, E.; ZORZANO, A.; RUDERMAN, N. B. Exercise and insulin signaling: a historical perspective. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, n. 2, p. 765-772, 2002.
- TRIPATHI, Y. B.; UPADHYAY, A. K. Effect of alcohol extract of the seeds of *Mucuna pruriens* on free radicals and oxidative stress in albino rats. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 6, p. 534-538, 2002.
- TURILLAZZI, E., et al. Side effects of AAS abuse: an overview. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 5, p. 374-389, 2011.
- URBAN, R. J. et al. Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis. **American Journal of Physiology**, v. 269, n. 5, p. E820-E826, 1995.
- VADIVEL, V.; PUGALENTI, M. Studies on the incorporation of velvet bean (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) as an alternative protein source in poultry feed and its effect on growth performance of broiler chickens. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, n. 7, p. 1367-1376, 2010.
- VIEIRA, R. P. et al. Dose-dependent hepatic response to subchronic administration of nandrolone decanoate. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 40, n. 5, p. 842-847, 2008.
- VINGREN, J. L. et al. Testosterone physiology in resistance exercise and training. **Sports Medicine**, v. 40, n. 12, p. 1037-1053, 2010.
- YESALIS, C. E. Use of steroids for self-enhancement: an epidemiologic/societal perspective. **The AIDS Reader**, v. 11, n. 3, p. 157-60, 2001.
- ZHANG, X. et al. Akt, FoxO and regulation of apoptosis. **Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research**, v. 1813, n. 11, p. 1978-1986, 2011.

ZHAO, J et al. Oxandrolone blocks glucocorticoids signaling in an androgen receptor-dependent manner. **Steroids**, v. 69, n. 5, p. 357-366, 2004.

ANEXO

ANEXO A – CERTIDÃO DE APROVAÇÃO

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****CERTIDÃO**

João Pessoa, 21 de janeiro de 2013.

CEUA Nº 0511/12

Ilmo(a). **Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva**
Departamento **Educação Física - CCS - UFPB**

Orientando(a) : **RENATA LEITE TAVARES, (Mestrado)**

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba em sua reunião ordinária de **21/01/13** analisou e **APROVOU** a execução do projeto **CAPACIDADE ANABÓLICA DE RATOS MACHOS SUPLEMENTADOS COM EXTRATO DE MUCUNA PRURIENS**.

Com previsão de empregar **78 Ratos WISTAR; ; ; ; ; ; ; ; - ANIMAIS PROVÉM DO BIOTÉRIO Prof. Thomas George.**

Para serem utilizados no período de **01/08/2012 a 01/12/2013**

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animal do CBIotec/UFPB

ARTIGO 1**CAPACIDADE ANABÓLICA E EFEITOS COLATERAIS DE *MUCUNA PRURIENS*
EM RATOS TREINADOS****PERIÓDICO:** PLANT FOODS FOR HUMAN NUTRITION**ÁREA:** NUTRIÇÃO**QUALIS:** A2**ISSN:** 0921-9668 (VERSÃO IMPRESSA), 1573-9104 (VERSÃO ELETRÔNICA)**FATOR DE IMPACTO:** 2.358

Renata Leite Tavares^a, Claudiane Magliano Queiroz^b, Lydiane Tavares Toscano^a, Luciana Tavares Toscano^a, Jailane de Souza Aquino^c, Alexandre Sérgio Silva^{a d}

CAPACIDADE ANABÓLICA E EFEITOS COLATERAIS DE *MUCUNA PRURIENS* EM RATOS TREINADOS

^aPrograma de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

^bPrograma de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil.

^cDepartamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

^dDepartamento de Educação Física, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

Endereço: Cidade Universitária – Castelo Branco, João Pessoa – PB. CEP: 58051-900

Endereço de e-mail de correspondência do autor: alexandreseorgiosilva@yahoo.com.br

Número de telefone: +55 (83) 8875-4675

ABBREVIATION LIST

ALT	Alanina amino transferase
AST	Aspartato amino transferase
CK	Creatina quinase
CS	Controle sedentário
CT	Controle treinado
DEXA	Absortometria de feixe duplo de raios-x
HDL-C	HDL-colesterol
LDH	Lactato desidrogenase
LDL-C	LDL-colesterol
MDA	Malondialdeído
MP	<i>Mucuna pruriens</i>
MPS	<i>Mucuna pruriens</i> sedentário
MPT	<i>Mucuna pruriens</i> treinado
TC	Colesterol total
TG	Triglicerídeos
VLDL-C	VLDL-colesterol

ABSTRACT

Mucuna pruriens (MP) is marketed in sports as ergogenic aid to stimulate testosterone synthesis and hypertrophy without scientific evidence. This study aimed to verify the effect of MP when associated to resistance training in biosynthesis of testosterone, lipid profile, oxidative stress, hepatic markers and body composition in trained animals. MP extract was produced and its nutritional composition was evaluated. To test anabolic effect of MP, wistar rats (n=35) were randomized into groups sedentary control (CS), sedentary supplemented with MP extract (MPS), trained control (CT) and trained supplemented with MP extract (MPT). Trained animals practiced resistance exercise and supplemented animals received 250 mg of MP extract/kg/day. It was evaluated food intake, body weight, liver, testes and visceral fat, total cholesterol and fractions, triglycerides, hepatic enzymes, creatine kinase, lactate dehydrogenase, malondialdehyde and body composition by absorptiometry, dual-energy x-ray absorptiometry. MP extract showed moderate amount of carbohydrate and protein, low amount of lipids and presence of antioxidants. Hepatic markers and body composition remained unchanged, but there was a reduction in HDL-C. In contrast, there was also a reduction in total cholesterol and VLDL-C, TG and visceral fat. Reduction in food consumption was observed only in trained groups from the fourth week until the end of the treatment. Chronic supplementation of MP associated with training did not show anabolic properties and reduced serum concentration of HDL-C, but decreased food intake, weight of visceral fat, total cholesterol, VLDL-C and TG.

Keywords: Legume, Testosterone, Resistance training, Steroid.

INTRODUÇÃO

A *Mucuna pruriens* (MP) é uma leguminosa indiana, utilizada por comunidades de baixa renda como fonte alternativa de nutrientes [1, 2]. Possui em sua composição nutricional cerca de 60% de carboidratos, 28% de proteínas e 2,5% de lipídeos [3].

Desde 2008 tem sido avaliada a ação da MP como estímulo afrodisíaco, resultando em aumento no volume seminal, concentração, contagem e motilidade do espermatozóide após tratamento [4]. O estudo realizado por Muthu et al. [5] avaliou modelos animais que receberam suplementação de extrato de MP, resultando em ganho de peso nos testículos, epidídimo, vesícula seminal e próstata, aumentos nas concentrações de testosterona sérica e testicular, teor proteico do epidídimo, dos testículos e colesterol.

Estes resultados têm criado grande especulação quanto à atividade ergogênica desta leguminosa no âmbito esportivo, de modo que produtos à base de extratos de MP já estão sendo comercializados pela internet ou em farmácias de manipulação, mesmo sem existirem pesquisas científicas relacionando o uso de MP ao estímulo à síntese de testosterona e hipertrofia muscular. No entanto, já foi observado o aumento do colesterol total em animais [5, 2], o que representa um efeito adverso do uso da MP.

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito da *Mucuna pruriens* (MP) associada ao treinamento de força sobre a biossíntese de testosterona, perfil lipídico, estresse oxidativo, função hepática e composição corporal em modelo animal.

MATERIAL E MÉTODOS

ELABORAÇÃO E ANÁLISE DO PRODUTO

Foram utilizados quatro quilos das sementes de MP, que foram obtidas no comércio local da cidade de João Pessoa, Paraíba (Brasil). Estas sementes foram lavadas, secas, moídas e peneiradas, originando uma farinha, que foi liofilizada por 24 horas a -48°C e pressão de $130\text{ }\mu\text{mHg}$ (Liofilizador L101, Liotop, Liobras, São Carlos/SP – Brasil). O extrato de MP teve sua composição centesimal determinada em triplicata de acordo com a metodologia proposta pela *Association of Official Analytical Chemists* [6]. Foi realizado *screening* fitoquímico do extrato de MP, para presença de flavonoides, saponinas, taninos, esteróis e alcaloides [7].

ANIMAIS E SUPLEMENTAÇÃO

Foram utilizados 35 ratos machos da linhagem Wistar com 80 dias de vida e peso médio de $305\pm 4,17\text{ g}$. Os animais foram mantidos sob condições padrões de iluminação (ciclo claro/escuro, 12/12 horas) e temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) e alocados em gaiolas coletivas com quatro ou cinco animais, recebendo água destilada e ração comercial *ad libitum*.

Os ratos foram randomizados em quatro grupos de oito animais: Controle + Sedentarismo (CS), Suplementação com MP + Sedentarismo (MPS), Controle + Treinamento Físico (CT), Suplementação com MP + Treinamento Físico (MPT). Os animais alocados nos grupos com suplementação receberam 250 mg do extrato de MP/kg de peso corporal/dia [5] diluídos em 1 mL de água destilada via gavagem durante dez semanas. Os demais receberam 1 mL de água destilada diariamente, também durante dez semanas, por gavagem.

O trabalho foi iniciado após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, sob o número 0511/12 e realizado de acordo com as recomendações da Declaração de Helsinki.

PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO

Concomitantemente com as dez semanas de suplementação de MP, os animais que haviam sido alocados para os grupos com treinamento físico foram submetidos a um programa de treinamento de saltos, constituindo uma modalidade de exercício resistido [8,9]. As sessões de treinamento foram realizadas em cilindros de plástico de policloreto de vinil com 25 cm de diâmetro e 70 cm de profundidade, preenchido até 60% com água a $32\pm 2^{\circ}\text{C}$. O treinamento físico era realizado três vezes por semana, no período da manhã. A água era trocada para cada animal, para evitar influência comportamental [10].

Antes de iniciar o treinamento, os animais foram submetidos à adaptação durante uma semana, em que realizaram três sessões constituídas por três séries de oito saltos com sobrecarga de 50% do peso corporal e intervalos de 30 segundos entre as séries. Passadas 72 horas do último treino da semana de adaptação, iniciou-se o protocolo de treinamento, que consistiu de quatro séries de oito saltos, com intervalos de 30 segundos entre as séries, durante dez semanas. Nas duas primeiras semanas, a sobrecarga correspondeu a 50% do peso corporal. Na 3ª e 4ª semanas, a sobrecarga foi de 60% do peso corporal dos animais; na 5ª e 6ª semanas, 70%; e nas quatro últimas semanas, 80% do seu peso [8, 9]. A carga foi imposta aos animais utilizando-se coletes apropriados [11, 12].

AValiação DO CONSUMO ALIMENTAR E DA MASSA CORPORAL

O consumo alimentar foi avaliado e calculado semanalmente, no mesmo dia e horário, sendo representado pela diferença, em gramas, entre o alimento oferecido e o residual [3]. A massa corporal dos animais foi verificada semanalmente, no mesmo dia e horário. Para esta pesagem foi utilizada balança analítica (Mettler, Suíça) – precisão: 0,1 g, capacidade máxima: 2610 g.

EUTANÁSIA

A eutanásia dos animais foi realizada após 48 horas do término do período experimental e jejum de 12 horas. Os animais foram anestesiados por via intramuscular e eutanasiados por retirada sanguínea através do plexo braquial, de acordo com os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e da Declaração de Helsinki.

ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Imediatamente após coletadas, as amostras sanguíneas foram centrifugadas a 8,3 xg por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado e refrigerado a -20° C até as análises, que ocorreram no máximo uma semana depois para todas as variáveis.

As análises de colesterol total e fração HDL, triglicerídeos (TG), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e creatina quinase (CK) foram realizadas através de kits comerciais específicos da marca Labtest® (Minas Gerais, Brasil) de acordo com as instruções do fabricante, em um analisador bioquímico automático Labmax 240 (Minas Gerais, Brasil) ou espectrofotômetro ultravioleta

(Biospectro, modelo SP-220/Brasil). Os valores das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) e muito baixa densidade (VLDL-c) foram estimadas pela seguinte equação: $[LDL-C = (CT-HDL-c) - (TG/5)]$ [13].

A atividade oxidante foi quantificada por meio da reação do ácido tiobarbitúrico. A atividade anabólica do extrato da MP foi testada através da avaliação da biossíntese de testosterona que foi dosada por meio das técnicas de quimioluminescência e imunoensaio, através de eletroquimioluminescência no plasma, de acordo com o procedimento proposto pelo kit comercial utilizado (Gênese Produtos Diagnósticos).

ANÁLISES DE TECIDOS E ÓRGÃOS

Após a eutanásia e a coleta sanguínea, toda a gordura visceral dos animais foi retirada, pesada e descartada. Fígado e testículos foram retirados, lavados em água destilada, secos em papel absorvente, pesados e descartados. As carcaças dos animais foram congeladas e mantidas a -20 °C até a análise de DEXA.

ABSORTOMETRIA DE FEIXE DUPLO DE RAIOS-X (DEXA)

A composição corporal dos animais foi avaliada por meio de DEXA, com o equipamento modelo Hologic QDR WI (Hologic inc., Waltham, MA). A dose de radiação recebida pelos animais foi menor do que 1,0 mRem. O equipamento realizou escaneamentos transversos do corpo a intervalos de 1 cm da cabeça aos pés, utilizando aproximadamente seis minutos para a medida completa. A composição corporal foi estimada dividindo o corpo em regiões anatômicas e os resultados foram expressos em gramas de massa magra e de gordura e percentual de gordura corporal [9].

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados como média e erro padrão. Os dados sendo considerados normais, a análise de análise de variância (ANOVA) *one way* foi adotada para comparar diferenças entre os grupos. Foi utilizado *post-hoc* de Tukey. Foi adotado nível de confiança de 5% ($p < 0,05$) para estes testes. Estes procedimentos foram realizados no software Instat 3.0.1 (Garph Pad Insta, San Diego, CA, USA).

RESULTADOS

A análise da composição centesimal revelou que o extrato de MP usado no estudo apresentou quantidade elevada de proteína (43,5%), moderada de carboidrato (36,1%) e pequena concentração de lipídeos (7,6%). O *screening* fitoquímico demonstrou ausência de alcaloides e taninos, pequena concentração de esteroides e saponinas e moderada quantidade de flavonoides.

O consumo alimentar não se mostrou regular entre os grupos durante as onze semanas, não havendo diferença no consumo alimentar na primeira, quarta e quinta semanas. Na segunda semana, o grupo MPT consumiu maior quantidade de ração (166 g), diferindo dos demais grupos. Na segunda e terceira semanas, foi observado maior consumo no grupo MPT (166 g) e MPS (158 g), respectivamente. Da sexta à nona semana, CS demonstrou maior consumo de ração (166 g, 158 g, 166 g e 174 g respectivamente). O grupo CT consumiu maior quantidade da ração (165 g) na décima semana e na última semana, foi observado maior consumo no grupo CS (185 g).

Os quatro grupos iniciaram estudo com peso corporal estatisticamente igual. Ao final do tratamento, eles continuaram apresentando peso corporal igual. Entretanto, o grupo MPT

apresentou o menor ganho de peso, representando apenas pouco mais da metade do ganho de peso do grupo CS (Figura 1).

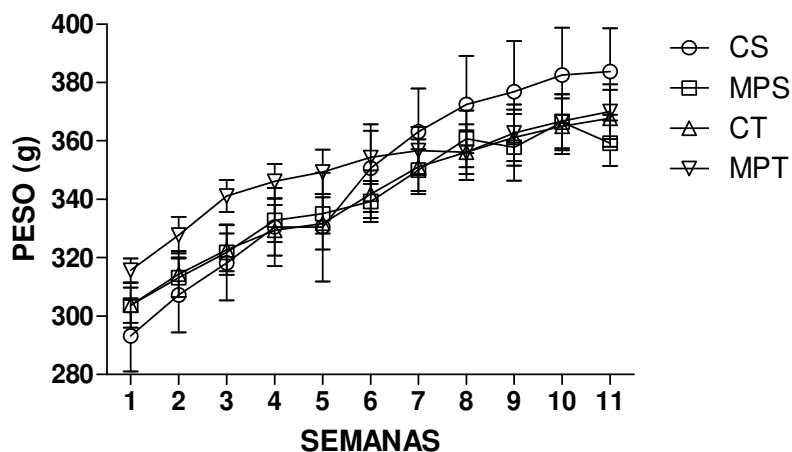


Figura 1. Variação de peso corporal de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP.

Os dados relativos à técnica da dissecação mostraram que os dois grupos treinados terminaram o experimento com menor gordura visceral em relação ao grupo CS. Mesmo sem realizar treinamento físico, os animais do grupo MPS também terminaram o estudo com peso de gordura visceral menor que CS e similar aos grupos CT e MPT. Por outro lado, a técnica DEXA revelou que não ocorreu nenhuma diferença para a gordura corporal total, medida por percentual de gordura, entre o grupo CS e os que passaram por tratamento com treinamento físico e/ou suplementação de MP. Os dados do peso da carcaça revelaram que o peso ao final do experimento foi similar para todos os grupos. Corroborando com esta técnica, os resultados da análise de DEXA confirmaram ausência de alteração na área de massa muscular nos grupos treinados e/ou suplementados em relação ao grupo controle. Estes dados estão apresentados na figura 2.

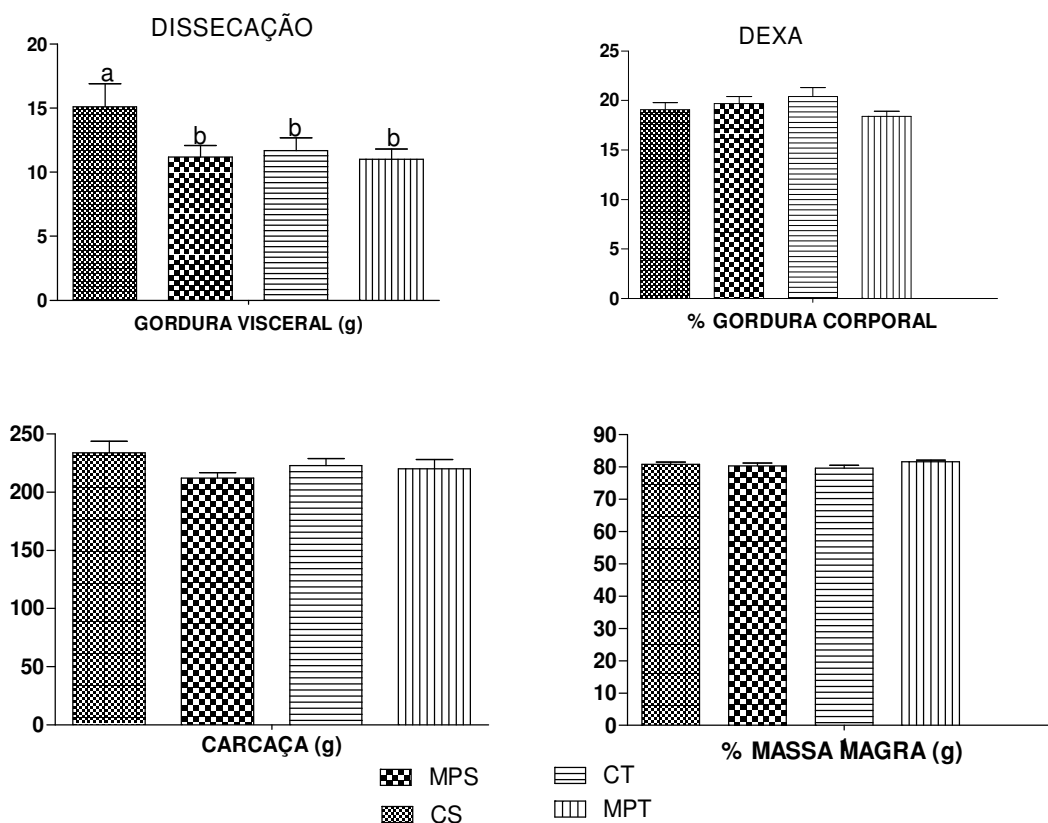


Figura 2. Efeito da suplementação de MP na composição corporal de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP.

Painel A: peso de gordura visceral dos modelos animais. Painel B: peso de carcaça dos modelos animais. Letras diferentes no mesmo painel

diferiram entre si pelo teste de ANOVA *one way*.

Na Figura 3 é possível observar que os animais do grupo MPS terminaram o estudo com peso testicular menor que os do grupo CS ($p=0,03$). Entretanto, os animais do grupo MPT não apresentaram qualquer alteração no peso testicular em relação aos grupos CS e CT. O peso testicular dos animais do grupo CT foi significativamente maior que os do grupo MPS.

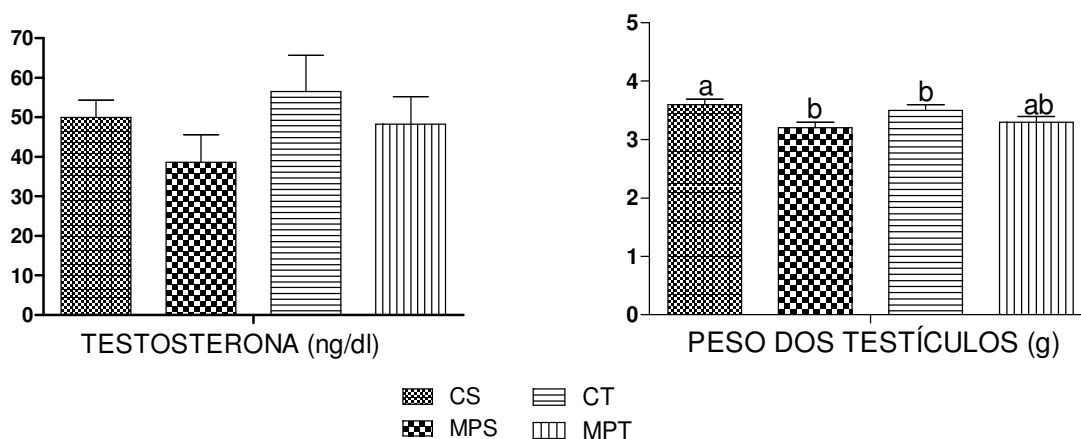


Figura 3. Testosterona sérica e peso dos testículos de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP.

Painel A: testosterona sérica dos modelos animais. Painel B: peso de testículos dos modelos animais. Letras diferentes no mesmo painel diferiram entre si pelo teste de ANOVA *one way*.

Os grupos dos animais que receberam administração de MP (MPS e MPT) não apresentaram aumento na concentração sérica de testosterona. No final do procedimento, os grupos apresentaram concentração deste hormônio de $49,9 \pm 4,4$ ng/dl (CS), $38,5 \pm 7,1$ ng/dl (MPS), $56,5 \pm 9,1$ ng/dl (CT) e $48,2 \pm 7,0$ ng/dl (MPT), sem que diferenças estatísticas tenham sido observadas. Estes números indicaram uma tendência para menor concentração sérica de testosterona no grupo MPS em relação ao CS ($p=0,082$). Os animais do grupo MPT apresentaram tendência para concentração sérica de testosterona maior que o grupo MPS ($p=0,056$). Interessante notar que a tendência para menor produção de testosterona no grupo MPS coincidiu com o menor peso dos testículos apresentado por este grupo.

Da mesma forma que a MP não influenciou a produção de testosterona, este tratamento não ofereceu proteção ao desgaste muscular proporcionado pelo treinamento. Os quatro grupos terminaram o experimento com valores similares para os marcadores de dano muscular CK e LDH. Entretanto, houve tendência estatística ($p=0,066$) para maiores valores de CK para o grupo CS em relação ao MPT. O treinamento isoladamente reduziu a

peroxidação lipídica. No entanto, a administração de MP resultou em maior valor de MDA nos animais treinados em relação aos que se exercitaram sem o consumo de MP (Tabela 1).

Tabela 1. Marcadores de dano muscular e estresse oxidativo mensurados em ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP.

GRUPO	CK (U/L)	LDH (U/L)	MDA (μ M)
CS	1344,4 $\pm$ 297	2481,4 $\pm$ 237	0,35 $\pm$ 0,06
MPS	860,7 $\pm$ 126	2319,3 $\pm$ 327	0,38 $\pm$ 0,07
CT	889,7 $\pm$ 144	2052,8 $\pm$ 323	0,24 $\pm$ 0,05*
MPT	801,1 $\pm$ 107	2217,4 $\pm$ 238	0,43 $\pm$ 0,07

Dados são apresentados como média e erro padrão da média. Não existem diferenças estatísticas nos valores de CK e LDH entre os grupos. *

indica diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos CONT-TREINO e MUC-TREINO, conforme teste de ANOVA one way.

O tratamento com MP também não alterou a função hepática dos animais, pois não houve diferença entre os grupos quanto às concentrações das enzimas hepáticas ALT e AST, mostrando que o uso deste produto não sobrecarrega a função hepática. O grupo MPS terminou o estudo com peso do fígado (8,8 $\pm$ 0,2g) significativamente menor ($p = 0,02$) que seus congêneres que também permaneceram sedentários, mas não foram tratados com MP, o grupo CS (10,5 $\pm$ 0,6g). Por outro lado, o grupo MPT apresentou peso do fígado similar aos demais grupos (Figura 4).

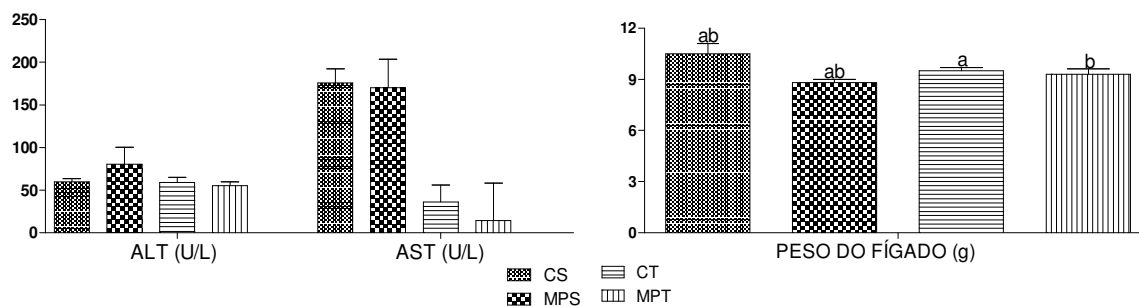


Figura 4. Enzimas hepáticas e peso do fígado de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP.

Painel A: enzimas hepáticas dos modelos animais. Painel B: peso de fígado dos modelos animais. Letras diferentes no mesmo painel

diferiram entre si pelo teste de ANOVA *one way*.

Quanto ao metabolismo lipídico, MP demonstrou redução na lipoproteína HDL-C tanto nos animais sedentários como nos treinados. Por outro lado, o colesterol total diminuiu nos dois grupos tratados com MP, de modo que a relação colesterol total / colesterol HDL diminuiu ($p < 0,05$) nestes grupos sem que os mesmo tenha ocorrido nos animais sedentários. A fração VLDL-C e os triglicerídeos também diminuíram significativamente apenas nos grupos sedentário ou treinado que receberam o extrato de MP (Figura 5).

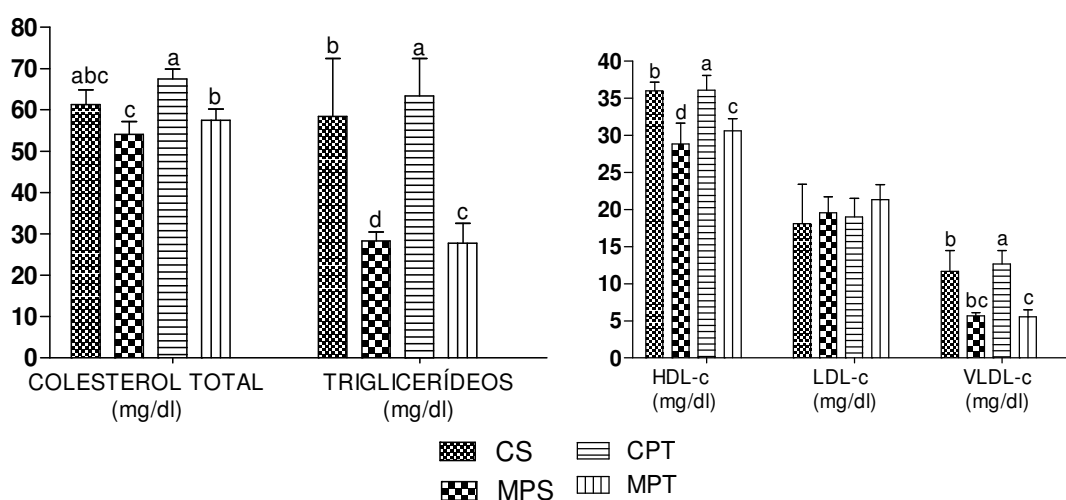


Figura 5. Perfil lipídico de ratos treinados ou sedentários, suplementados ou não com MP.

Painel A: colesterol total e triglicerídeos dos modelos animais. Painel B: frações HDL-c, LDL-c e VLDL-c dos modelos animais. Letras

diferentes no mesmo painel diferiram entre si pelo teste de ANOVA *one way*.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho indicam que a suplementação crônica de MP associada ao treinamento físico não estimula a biossíntese de testosterona e não leva ao desenvolvimento testicular. Esta suplementação resultou em uma alteração indesejável no perfil lipídico – a redução do HDL-c. No entanto, promoveu redução de colesterol total, VLDL-c, triglicerídeos e gordura visceral. Redução no consumo alimentar foi observada nos grupos treinados, independentemente do tratamento com MP.

Com base em dados prévios [4, 5], esperava-se que a administração de MP levasse a um aumento na produção de testosterona, uma vez que há estudos anteriores mostrando sua ação no aumento da concentração deste hormônio após o uso do extrato de MP, além de aumento do peso testicular [5]. No entanto, os dados do presente trabalho mostraram um comportamento contrário, com os animais sedentários e tratados com MP apresentando significativa redução do peso testicular acompanhado por uma forte tendência de redução na produção de testosterona em relação aos animais também sedentários sem tratamento do MP.

Uma possível explicação para a ausência de aumento na testosterona é a alta dose usada por estes autores, que adotaram concentração de 700 e 800 mg do extrato de MP/kg de peso corporal para avaliar testosterona e 1.000 e 1.5000 mg de extrato de MP/kg de peso corporal para avaliar peso dos testículos [5]. No entanto, este fato pode explicar a ausência de aumento da concentração de testosterona, mas não justifica a forte tendência de redução dos animais do presente estudo e tão menos a redução do peso do testículo.

Os dados do presente estudo corroboram com um estudo que também obteve diminuição do peso dos testículos com a mesma concentração usada (250 mg / kg de peso) [15]. Suresh, Prithiviraj e Prakash [15] encontraram aumento do peso testicular com doses menores (150 e 200 mg/kg de peso) para uma duração do tratamento de metade da que foi

usada no presente estudo (seis semanas). O que pode explicar este efeito antagônico – aumento do peso testicular em doses menores e redução do peso em doses maiores – é o *feedback* negativo, uma implicação bastante conhecida do uso de esteroides anabolizantes em humanos, no qual altas doses de testosterona no sangue inibem a atividade testicular, com consequente hipotrofia [16].

O treinamento físico parece ter impedido tanto a redução do peso testicular quanto a redução da produção de testosterona nos animais tratados com MP. De fato, existem dados indicando que exercício resistido aprimora a produção de testosterona tanto em animais [17] quanto em humanos [18].

O menor ganho de peso corporal dos animais que foram tratados com o extrato de MP e submetidos ao treinamento de força ocorreu juntamente com um menor peso de gordura visceral em relação aos demais grupos e foi acompanhado por uma redução do consumo alimentar. O menor peso corporal associado à menor peso de gordura visceral indicaria uma maior proporção de massa magra no grupo MP treinado. Entretanto, não houve diferença entre os pesos das carcaças, nem nos dados de massa magra obtidos por meio do DEXA, apesar de que o esperado seria aumento de massa magra nos animais submetidos ao treinamento.

Para analisar os marcadores de dano muscular, Aguiyi et al. [19] administrou extrato de MP a animais durante 24 horas ou três semanas, seguido da injeção de veneno de cobra e observaram que este tratamento prévio com extrato de MP foi capaz de inibir aumentos nos marcadores CK e LDH causados pelo veneno. No presente estudo, os animais treinados apresentaram comportamento bastante similar para as concentrações séricas de CK e LDH, indicando que a MP não exerce qualquer efeito protetor contra o desgaste muscular promovido pelo treinamento físico. No entanto, uma tendência estatística para maiores valores

de CK no grupo controle sedentário em relação aos animais exercitados tratados com MP não descarta a possibilidade de algum efeito protetor da MP sobre esta enzima muscular.

A MP não foi capaz de influenciar o estresse oxidativo marcado pela peroxidação lipídica (MDA). Pelo contrário, os dados do presente estudo mostraram que apenas o treinamento físico do grupo CT foi capaz de reduzir o estresse oxidativo, o que corrobora com várias investigações prévias que demonstraram efeito antioxidante do treinamento físico [20, 21, 22], enquanto que este efeito protetor foi anulado nos animais também treinados, mas tratados com MP. Estes dados diferem dos de Ahmad et al. [4], que encontraram redução no MDA, alterações positivas no perfil lipídico seminal (lipídios totais, colesterol, triglicerídeos e fosfolipídios) e aumento nas concentrações de vitaminas antioxidantes em humanos que receberam o extrato de MP, assim como os resultados encontrados por Gupta et al. [23], que também obtiveram redução no MDA em homens inférteis. Deve ser notado que estes dois estudos não adotaram protocolos de exercício. Entretanto, estes dados corroboram com um estudo em modelo animal, em que a administração de extrato de MP durante 30 dias, não causou alterações no nível de substâncias TBA-reativas [24].

A ausência de alteração nas enzimas hepáticas ALT e AST indica ausência de toxicidade hepática relacionada ao uso de MP e corrobora dados anteriores [25]. Entretanto, a diminuição na concentração de HDL-C foi um efeito colateral adverso observado no estudo. Este é o mesmo efeito relatado para o uso de esteroides anabólicos androgênicos e substâncias pro-hormonais destinadas aos praticantes de exercícios. Mesmo em doses fisiológicas (200 mg/semana), os esteroides anabólicos androgênicos já resultam em leve diminuição na concentração de HDL-C, ao passo que o uso prolongado em doses elevadas com associação de drogas diferentes leva a uma queda de mais da metade de HDL-C [26]. A MP, por sua vez, apesar de não ter demonstrado estimular a biossíntese de testosterona na concentração de 250 mg/kg/dia, é suficiente para apresentar efeitos adversos no perfil lipídico.

Apesar deste resultado, os animais que receberam a suplementação de MP apresentaram diminuição no colesterol total, fração VLDL e triglicerídeos. Já o LDL-C não sofreu influência quanto ao uso de MP ou treinamento físico. Outro aspecto ponderador é o fato de que, apesar da redução do HDL-C, este efeito adverso é atenuado perante a adequada relação colesterol total/HDL-C. Sabe-se que esta relação é mais importante do que apenas os valores de cada uma das frações do colesterol isoladamente porque indica a verdadeira ação aterosclerótica induzida pelo LDL-C, avaliando a infiltração do LDL-C nas artérias contra o transporte reverso do HDL-C [27].

O efeito da MP no perfil lipídico permanece controverso. Os dados do presente estudo corroboram com achados de aumento no colesterol total em modelos experimentais que receberam administração de extrato de MP [5] e que obtiveram aumento no colesterol total, diminuição no HDL-C e no VLDL-C em animais suplementados extrato de MP [2]. Ao mesmo tempo, outros pesquisadores observaram redução na concentração de colesterol total e LDL-C associado a aumento na concentração de HDL-C em ratos que receberam extrato de MP em diferentes concentrações [28].

Uma interessante observação deste estudo foi o efeito da MP na redução da gordura visceral. Os animais tratados apenas com MP apresentaram o mesmo peso de gordura visceral dos animais treinados com ou sem MP. Considerando que estes três grupos tiveram menor peso de gordura visceral que o grupo que nem treinou e nem suplementou, os dados do presente estudo indicaram claramente que a MP tem a mesma capacidade de impedir o acúmulo de gordura visceral que o treinamento físico. Entretanto, a ausência de redução do percentual de gordura indica uma ponderação em relação ao fato de ter existido um processo de emagrecimento de corpo inteiro, senão apenas um efeito localizado na gordura visceral.

Embora várias propriedades tenham sido hipotetizadas para a MP, não se havia demonstrado qualquer efeito da MP no emagrecimento de corpo inteiro ou em nível de gordura

visceral. Os resultados deste estudo não permitem elucidar por quais mecanismos a MP poderia ter impedido o ganho de gordura visceral. No entanto, este achado foi acompanhado por redução em vários componentes lipídicos (todas as formas de colesterol, exceto LDL-C e ainda redução dos triglicerídeos). Em conjunto, os dados indicam que a MP parece ter um efeito importante sobre a absorção ou metabolismo das gorduras circulantes, mas não na gordura armazenada na forma de tecido adiposo. Portanto, o presente estudo indica a pertinência de futuras investigações sobre o efeito da MP no metabolismo das gorduras.

Um dos mecanismos a explicar esta redução da gordura visceral pode ter sido o algum efeito anorexígeno observado desde a sexta semana nos grupos MPS, CT e MPT. No entanto, estes dados indicam um possível efeito anorexígeno tanto da MP quanto do treinamento físico. Entretanto, recomenda-se cautela, dado ao fato de que, como o estudo não teve a intenção expressa de avaliar consumo alimentar, os dados representam a média dos animais postos em cada gaiola. De qualquer maneira, dados prévios obtidos por David et al. [29] indicam que o treinamento físico pode levar à redução do apetite, com diminuição na concentração da grelina (hormônio associado à fome) associando-o à prática de treinamento físico.

Outra possível explicação para os efeitos observados no grupo MPS estaria em outros nutrientes, como o ácido linoleico. Um mecanismo proposto seria que os triglicerídeos de cadeia média teriam preferência de metabolização hepática e inibiria a diferenciação de células mesenquimais para adipócitos [30]. Explicação similar tem sido dada para estudo com óleo de coco em humanos, resultando em diminuição apenas de gordura visceral e não de gordura corporal total [31]. Siddhuraju, Becker e Makkar [32] obtiveram que cerca de 50% dos lipídeos totais da MP são provenientes de ácido linoleico, entretanto, somente com a realização de estudos futuros poderá ser indicado o mecanismo de redução de gordura visceral ou limitação do seu acúmulo perante tratamento com MP.

Ao analisar conjuntamente todos os dados deste estudo, estes resultados demonstram que a suplementação com MP em associação com o treinamento físico não promoveu atividade anabólica, uma vez que não foi capaz de aumentar a biossíntese de testosterona nem qualquer efeito anabólico muscular. Pelo contrário, provocou diminuição no peso dos testículos, acompanhada por forte tendência na redução da produção de testosterona. No entanto, foram encontrados efeitos em variáveis secundárias do estudo em relação ao metabolismo das gorduras, especificamente por uma redução da adiposidade visceral e redução da concentração tanto de fração HDL-C (o que seria um efeito adverso), quanto da fração VLDL-C (o que seria um efeito colateral benéfico) nos animais tratados com MP sedentários ou treinados.

REFERÊNCIAS

- [1] NWAOGUIKPE, R. N.; BRAIDE, W.; C. O., UJOWUNDU (2011) The effects of processing on the proximate and phytochemical compositions of *Mucuna pruriens* seeds (velvet beans). Pak J Nutr 10: 947-951.
- [2] AHMAD, N. et al. (2012) Testosterone like activity of ethanolic and aqueous extracts of *Mucuna pruriens* seeds and its effects on serum biochemical metabolites in immature male rats. Pak Vet J 32:60-64.
- [3] VADIVEL, V.; PUGALENTI, M. (2010) Studies on the incorporation of velvet bean (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) as an alternative protein source in poultry feed and its effect on growth performance of broiler chickens. Trop Anim Health Pro 42: 1367-1376. doi: 10.1007/s11250-010-9594-2
- [4] AHMAD, M. K. et al. (2008) Effect of *Mucuna pruriens* on semen profile and biochemical parameters in seminal plasma of infertile men. Fertil Steril 90: 627-635. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.07.1314
- [5] MUTHU, K.; KRISHNAMOORTHY, P. (2011) Evaluation of androgenic activity of *Mucuna pruriens* in male rats. Afr J Biotechnol 10: 15017-15019. doi: 10.5897/AJB09.896
- [6] AOAC (2002) Official Methods of Analysis. Washington, DC
- [7] MATOS, F. J. (2009) Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza, Brazil
- [8] RENNO, A. C. M. et al. (2007) The effects of a progressive loading exercise program on femoral physical properties and strength of osteopenic rats. Acta Ortop Bras 15:276-279.
- [9] MOREAU, M. F. et al. Lean, fat and bone masses are influenced by orchidectomy in the rat. A densitometric X-ray absorptiometric study. J Musculoskel Neuron Interact, v. 1, n. 3, p. 209-213, 2001.
- [10] MARQUETI, R. C. et al. (2006) Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect remodeling of the Achilles tendon in rats. Am J Sports Med 34:1274-1280, doi: 10.1177/0363546506286867
- [11] KELLIHER, P. et al. (2000) Varying response to the rat forced-swim test under diurnal and nocturnal conditions. Physiol Behav 69:531-539, doi: 10.1016/S0031-9384(00)00213-4
- [12] FERREIRA, L. D. M. C. et al. (2001) Effect of streptozin-induced diabetes on glycogen resynthesis in fasted rats ost high intensity exercise. Am J Physiol Endocrinol Metab 280:E83-E91, doi: 0193-1849/01.
- [13] CASSIMIRO-LOPES, G. et al. (2008) Maximum acute exercise tolerance in hyperthyroid and hypothyroid rats subjected to forced swimming. Horm Metab Res 40:276-280, doi: 10.1055/s-2008-1046799.

- [14] FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18:499-502.
- [15] SURESH, S.; PRITHIVIRAJ, E.; PRAKASH, S. (2009) Dose- and time-dependent effects of ethanolic extract of *Mucuna pruriens* Linn. seed on sexual behavior of normal male rats. *J Ethnopharmacol* 122: 497-501, doi: 0.1016/j.jep.2009.01.032
- [16] AMSTERDAM, J. V.; OPPERHUIZEN, A; HARTGENS, F. (2010) Adverse health effects of anabolic-androgenic steroids. *Regul Toxicol Pharmacol* 57:117-123, doi:10.1016/j.yrtph.2010.02.001
- [17] AIZAWA, K. et al. (2008) Sex differences in steroidogenesis in skeletal muscle following a single bout of exercise in rats. *J Appl Physiol* 104:67-74, doi: 10.1152/jappphysiol.00558.2007.
- [18] KADI, F et al. (2000) The expression of androgen receptors in human neck and limb muscles: effects of training and self-administration of androgenic–anabolic steroids. *Histochem Cell Biol* 113:25-29.
- [19] AGUIYI, J. C. et al. (2001) Blood chemistry of rats pretreated with *Mucuna pruriens* seed aqueous extract MP101UJ after *Echis Carinatus* venom challenge. *Phytother Res* 15:712-714, doi: 10.1002/ptr.913
- [20] SAMJOO, I. A., et al. (2013) The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. *Nutr Diabetes* 3:1-10, doi: 10.1038/nutd.2013.30
- [21] AZIZBEIGI, K. et al. (2013) The effect of progressive resistance training on oxidative stress and antioxidant enzyme activity in erythrocytes in untrained men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 23:230-238.
- [22] QI, Z. et al. (2011) Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Free Radical Biol Med* 50:794-800, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.022.
- [23] GUPTA, A et al. (2011) A proton NMR study on the effect of *Mucuna pruriens* on seminal plasma metabolites of infertile males. *J Pharm Biomed Anal* 55:1060-1066, doi:10.1016/j.jpba.2011.03.010
- [24] TRIPATHI, Y. B.; UPADHYAY, A. K. (2002) Effect of alcohol extract of the seeds of *Mucuna pruriens* on free radicals and oxidative stress in albino rats. *Phytother Res* 16:534-538, doi: 10.1002/ptr.962
- [25] CHUKWUDI, N. H.; SIMEON, O.; CHINYERE, A. J. (2011) Analysis of some biochemical and haematological parameters for *Mucuna pruriens* (DC) seed powder in male rats. *Pak J Pharm Sci* 24:523-526.
- [26] HARTGENS, F. (2004) Effects of androgenic-anabolic steroids on apolipoproteins and lipoprotein (a). *Br J Sports Med* 38:253-259, doi: 10.1136/bjism.2003.000199.

- [27] ARSENAULT, B. J. et al. (2009) Beyond low-density lipoprotein cholesterol. Respective contributions of non-high-density lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, and the total cholesterol/high-density lipoprotein cholesterol ratio to coronary heart disease risk in apparently healthy men and women. *J Am Coll Cardiol* 55:35-41, doi: 10.1016/j.jacc.2009.07.057
- [28] EZE, E. D. et al. (2012) Changes in lipid profile of rats administered with ethanolic leaf extract of *Mucuna pruriens* (Fabaceae). *Curr Res J Biol Sci* 4: 130-136.
- [29] DAVID, R. et al. (2009) The influence of resistance and aerobic exercise on hunger, circulating levels of acylated ghrelin and peptide YY in healthy males. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296:29-35, doi: 10.1152/ajpregu.90706.2008.
- [30] TSUZUKI, T. et al. (2005) Intake of conjugated eicosapentaenoic acid suppresses lipid accumulation in liver and epididymal adipose tissue in rats. *Lipids* 40:1117-1123.
- [31] ARUNIMA, S.; RAJAMOHAN, T. (2014) Influence of virgin coconut oil-enriched diet on the transcriptional regulation of fatty acid synthesis and oxidation in rats – a comparative study. *Br J Nutr* 11:1-1.
- [32] SIDDHURAJU, P.; BECKER, K.; MAKAR, H. P. S. (2000) Studies on the Nutritional Composition and Antinutritional Factors of Three Different Germplasm Seed Materials of an Under-Utilized Tropical Legume, *Mucuna pruriens* Var. *Utilis*. *J Agric Food Chem* 48:6048-6060, doi 10.1021/jf0006630.

ARTIGO 2

COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL, FITOQUÍMICOS E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA
DE *MUCUNA PRURIENS*

PERIÓDICO: BOLETIM DO CENTRO DE PESQUISA DE PROCESSAMENTO DE
ALIMENTOS

ÁREA: NUTRIÇÃO

QUALIS: B2

ISSN: 0102-0323 (VERSÃO IMPRESSA), 1983-9774 (VERSÃO ELETRÔNICA)

FATOR DE IMPACTO: 0,1

COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL, FITOQUÍMICOS E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *MUCUNA PRURIENS*

Renata Leite Tavares*¹

Alexandre Sérgio Silva**

Ana Regina Nascimento Campos***

Alexandre Pereira Schuler****

Jailane de Souza Aquino*****

O objetivo do presente estudo foi avaliar a composição nutricional e fitoquímica, bem como a qualidade microbiológica da leguminosa *Mucuna pruriens* (MP) cultivada no nordeste brasileiro. Foram produzidos farinha e extrato de MP, que foram avaliados quanto à composição centesimal, mineral e fitoquímica, além de perfil de ácidos graxos e qualidade microbiológica. A farinha e o extrato de MP apresentaram 43,12% e 43,4% de proteína, 7% e 7,6% de lipídeos e 38% e 36% de carboidrato e 5,64 e 2,36% de fibras respectivamente. Os minerais mais abundantes na farinha e no extrato e de MP foram potássio (635 e 679 mg/g), ferro (158 e 79 mg/g) e fósforo (83 e 93 mg/g). Foi detectada presença de flavonoides, esteroides e saponinas na MP. Os principais ácidos graxos encontrados foram ácido mirístico, palmítico, oleico e linoleico. A avaliação microbiológica não indicou presença de microrganismos patogênicos nem deteriorantes nas amostras. Conclui-se que a MP produzida no nordeste brasileiro é uma alternativa de alimento fonte de carboidratos, fibras, proteínas, ácidos graxos essenciais, minerais (potássio, ferro e fósforo), saponinas e flavonoides, o que pode incentivar seu potencial de consumo e comercialização.

PALAVRAS-CHAVE: EXTRATO; FARINHA; FITOQUÍMICOS; LEGUMINOSA; MINERAIS.

1 INTRODUÇÃO

A *Mucuna pruriens* (MP) é um membro da família *Fabaceae*, formada por aproximadamente 650 gêneros e 2.000 espécies, também conhecida por “*velvet bean*, *lion bean*, *nescafe*, *cowage*” entre outros. É uma leguminosa originária da Índia e cultivada em países como Sri Lanka, Malásia, outros do sudeste da Ásia e nas regiões tropicais, como América Central e América do Sul (HAMMERTON, 2003).

Esta leguminosa apresenta vagens com cerca de doze centímetros de comprimento e aproximadamente sete grãos com coloração variada, desde bege até marrom e preto, além de grãos rajados. A MP é bastante cultivada no nordeste

*¹ Mestranda em Ciências da Nutrição, Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Paraíba (e-mail: renaltav@gmail.com).

**Doutor em Ciências da Motricidade, Docente, Departamento de Educação Física, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Paraíba (e-mail: alexandresergiosilva@yahoo.com.br).

*** Doutora em Engenharia de Processos, Docente, Departamento de Química, UFCG, Cuité, Paraíba (e-mail: arncampos@yahoo.com.br).

**** Doutor em Engenharia Química, Docente, Departamento de Química Industrial, UFPE, Recife, Pernambuco (e-mail: lciufpe@gmail.com).

*****Doutora em Ciências da Nutrição, Docente, Departamento de Nutrição, UFPB, João Pessoa, Paraíba (e-mail: lalaaquino@hotmail.com).

brasileiro, onde é utilizada como adubo verde, devido a sua capacidade de fixação de nitrogênio no solo, ou como complemento para ração animal. O elevado volume produzido com esta finalidade é muitas vezes desperdiçado, visto que ainda não há expressivo consumo humano deste grão no país (RAINA; TOMAR; DUTTA, 2012).

Diversos estudos destacam as propriedades medicinais desta leguminosa, tendo sido proposta sua utilização no tratamento da doença de Parkinson (THARAKAN, 2007), como hipoglicemiante (MAJEKODUNMI et al., 2011), anti-inflamatório (BALA et al., 2011), diurético (BALA et al., 2011), hipolipemiante (EZE et al., 2012), afrodisíaco (SURESH; PRITHIVIRAJ; PRAKASH, 2009), além de haver estudos indicando sua atividade androgênica (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011; AHMAD et al, 2012) e estrogênica (SHAHAJI; PARNU, 2011).

Estudos que analisaram a composição da MP cultivada na Índia demonstraram alto percentual de proteínas (28,23%) e de carboidratos (60,03%) e baixo percentual de lipídeos (2,69%), além de apresentar composição mineral com boa qualidade nutricional (SIDDHURAJU; BECKER, 2003).

Quanto à composição fitoquímica, Manalisha e Chandra (2012) detectaram a presença de proteínas, carboidratos, resinas, flavonoides, alcaloides, esteróis, fenóis e glicosídeos em grãos de MP submetidos apenas à lavagem e secagem em sombra. Também foram encontrados componentes antinutricionais, como taninos e ácido fítico, inibidores enzimáticos, tripsina, saponinas, lectinas, atividade de hemaglutininas e elevado teor de levodopa (VADIVEL; PUGALENTI, 2010; NWAOGUIKPE; BRAIDE; UJOWUNDU, 2011; AHMAD et al, 2012), os quais necessitam de tratamentos para serem inativados, tais como descascamento, cozimento, irradiação entre outros (BETANCUR-ANCONA et al., 2008).

Estudos sobre a composição nutricional da MP caracterizam esta leguminosa produzida principalmente na Índia, no entanto, sabe-se que a composição nutricional de alimentos é influenciada por variações climáticas, composição do solo, temperatura, vegetação circunvizinha e volume de chuva (LUIZÃO, 2007). Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar a composição nutricional e fitoquímica, bem como a qualidade microbiológica da leguminosa *Mucuna pruriens* cultivada no nordeste brasileiro.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PREPARAÇÃO DA FARINHA E DO EXTRATO DE MP

As sementes de MP foram obtidas no comércio local da cidade de João Pessoa – PB, totalizando quatro Kg. Para elaboração da farinha, as sementes foram lavadas duas vezes seguidas em água corrente, posteriormente foram secas com papel absorvente à temperatura ambiente ($\pm 26^{\circ}\text{C}$), trituradas em moinho e peneiradas, até obter-se um pó fino, que foi mantido em estufa de secagem a 50°C durante 100 horas. O extrato foi obtido por extração hidroalcoólica adicionando-se 200 mL de água destilada e 200 mL de álcool em 100 g da farinha seca. Esta mistura foi homogeneizada durante 72 horas e depois peneirada para retirar os resíduos sólidos, sendo então levado ao banho-maria a 45°C por 24 horas, até formar um material de consistência cremosa e coloração bege-amarronzado. As amostras foram congeladas e em seguida liofilizadas a -48°C , com pressão de 130 mmHg em liofilizador modelo Liotop, L101 (São Carlos, São Paulo, Brasil) por 24 horas (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011; SURESH; PRITHIVIRAJ; PRAKASH, 2009).

2.2 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DA FARINHA E DO EXTRATO DE MP

2.2.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Todas as análises de composição centesimal foram realizadas em triplicata. Foram realizadas análises de umidade por secagem em estufa a 105°C, cinzas por incineração em forno mufla a 550 °C, o percentual de proteína foi obtido utilizando-se o método de Kjeldhal e a metodologia de Soxhlet foi utilizada para a extração e determinação de lipídeos totais (AOAC, 2002). A quantidade de carboidrato foi estimada através da diferença dos valores médios obtidos. Foi realizada a determinação de fibra bruta de acordo com a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

Inicialmente obteve-se o extrato lipídico pelo método de Folch et al. (1957) e a partir deste extrato foram obtidos os ésteres metílicos mediante esterificação (HARTMAN; LAGO, 1973). A identificação e quantificação dos ésteres metílicos foram realizadas em cromatógrafo a gás de modelo CG-Master (Ciola & Gregori Ltda, São Paulo, Brasil), com um detector de ionização por chama. As condições cromatográficas foram: coluna de polietilenoglicol (Carbowax 20M), de sílica fundida, com 30 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura da película de fase estacionária. As temperaturas utilizadas foram: vaporizador: 150 °C, detector: 200 °C e programação do forno: 80 °C por 3 minutos, 10 °C/minuto até 120 °C, permanecendo em 200 °C durante 6 minutos, posteriormente decaindo 3 °C/minuto até 180°C. A fase móvel foi hidrogênio, com uma vazão de 5 mL/minuto. O volume injetado foi de 1 µL, com uma razão de divisão de 1:25. A caracterização dos ácidos graxos foi realizada por comparação do espectro de massas obtido com aquele de padrões que também foram injetados no cromatógrafo.

2.2.3 COMPOSIÇÃO MINERAL

A análise dos minerais presentes na MP foi realizada através de espectrometria de fluorescência de raios x de energia dispersiva (TEIXEIRA et al., 2012). Inicialmente, as amostras foram secas em estufa a 75°C por uma hora em vidros relógios. Em seguida, as amostras foram colocadas em portas-amostra próprios do aparelho *Energy Dispersive X-ray Spectrometer* (modelo EDX-720, Japão). Os mesmos foram lacrados em ambas as extremidades com filmes finos de polipropileno e em uma das extremidades foi aberto um orifício para evitar extrusão de amostras ao acionar o vácuo, para então serem analisadas em EDX.

2.2.4 SCREENING FITOQUÍMICO

Foi realizado *screening* fitoquímico da farinha e do extrato de MP, para presença de flavonoides, saponinas, taninos, esteróis e alcaloides, de acordo com a metodologia proposta por Matos (2009).

Para a detecção dos flavonoides, adicionou-se clorofórmio para separação das camadas. Em seguida, adicionou-se metanol e foi realizada a evaporação em

rota-vapor. O material dissolvido foi distribuído em dois tubos de ensaios, onde se adicionou solução de HCl a 10% e fita de magnésio, deixando reagir até desaparecer a fita e observando o aparecimento de coloração rósea (teste positivo). No segundo tubo foram adicionados acetona, ácido oxálico e ácido bórico. A mistura foi seca em banho-maria, adicionou-se éter etílico e observou-se a fluorescência em espectrofotômetro ultravioleta a um comprimento de onda de 510 nm (Biospectro, modelo SP-220/Brasil).

A análise qualitativa de saponina foi realizada através do teste de espuma, que consistiu em dissolver a amostra em água em um tubo de ensaio, agitando por 1 minuto e deixando em repouso por 10 minutos. Após o repouso, observou-se se houve o desaparecimento da espuma, o que caracteriza teste negativo para este fitoquímico.

O teste de taninos foi realizado com a evaporação das amostras até secagem completa, filtrando em funil com algodão. O filtrado foi distribuído em seis tubos de ensaios, sendo os três primeiros testados com gelatina a 0,5% e os outros, com cloreto de ferro a 2% em diferentes concentrações (0,5, 1,0 e 2,0 mL), sendo observada se houve a formação de precipitados, o que indica a presença de taninos.

Para a análise de esteroides foi realizada a evaporação das amostras até secagem completa, adicionando clorofórmio para a dissolução. Em seguida, as amostras foram distribuídas em três tubos de ensaios com 0,12, 0,25 e 0,5 mL. Em cada tubo foi adicionado clorofórmio, anidrido acético e ácido sulfúrico concentrados. Os resultados foram observados de acordo com o padrão de coloração, onde a cor azul indicou a presença de esteroides.

A análise qualitativa de alcaloides foi realizada mediante a evaporação do extrato alcoólico até secagem completa, alcalinizando-se com hidróxido de sódio a 1%. Adicionou-se água destilada com clorofórmio, o sistema foi filtrado com algodão e o extrato foi separado da camada clorofórmica. Em seguida, foi adicionado ácido clorídrico a 1% à camada clorofórmica, agitando e deixando decantar até ficar límpido. Posteriormente, foi distribuído em quatro tubos de ensaios 1 mL da camada de HCl, seguindo-se de testes com os reagentes: Bouchardat, Mayer, Dragendorff e ácido sílico tungstico, sendo observada a formação de precipitado em caso positivo.

2.3 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A preparação prévia das amostras de extrato e farinha de MP para análise microbiológica consistiu em homogeneizar os produtos em água peptonada tamponada a 0,1%, de onde foram elaboradas diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . A qualidade microbiológica da farinha e do extrato de MP foi avaliada mediante enumeração de Coliformes a 35°C, Contagem Padrão em Placas de Bactérias Aeróbias Mesófilas, Bolores e Leveduras, *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella* spp (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados referentes à composição centesimal foram submetidos ao teste t de *Student* em nível de 5% de significância ($p < 0,05$), utilizando-se o software GraphPad In Stat versão 3.0.1 (Garph Pad In Stat, San Diego, CA, USA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Houve diferença ($p < 0,05$) nos percentuais de umidade e cinzas entre a farinha e o extrato de MP, sendo este resultado justificado pelas diferentes formas de processamento a que as amostras foram submetidas (Tabela 1).

Tabela 1. Composição centesimal da farinha e extrato de *Mucuna pruriens*.

Composição	Farinha	Extrato
Proteínas (%)	43,12±0,19 a	43,40±0,07 a
Carboidrato (%)	38,00±0,4 a	36,00±1,6 a
Lipídeos (%)	7,00±0,5 a	7,60±1,4 a
Umidade (%)	8,20±0,04 b	9,90±0,02 a
Cinzas (%)	3,10±0,04 a	2,90±0,02 b
Fibra bruta (%)	5,64±0,3 a	2,36±0,06 b
Valor energético (Kcal)	387,30±2,46 a	386,90±7,06 a

Médias ± erro-padrão com letras diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de t de *Student* ($p < 0,05$).

Tanto a farinha como o extrato da planta nativa MP cultivada no nordeste brasileiro apresenta alto percentual proteico (entre 43,12% e 43,40%) e de carboidratos (36,0% e 38,0 %), bem como destacável quantidade de cinzas (entre 2,90% e 3,10%). Ao comparar com os resultados obtidos por Josephine e Janardhanan (1992), o presente estudo obteve percentual proteico menor (34,4%), percentual lipídico similar (7,7%) e percentual de carboidrato superior (45,9%). Já em relação aos resultados obtidos por Siddhuraju, Vijayakumari e Janardhanan (1996) os dados desta pesquisa foram maiores para lipídeos e proteína (6,7% e 31,5%, respectivamente) e menores para carboidratos (52,5%). Nwaoguibe, Braide e Ujowundu (2011), ao analisarem a farinha de MP crua, obtiveram 28,2% de proteína, 2,7% de lipídeos e 60% de carboidratos e também submeteram a farinha crua de MP a encharcamento seguido de cocção e observaram alteração apenas na concentração de proteínas, que foi reduzida. Os resultados de fibras da farinha e do extrato são inferiores ao percentual de fibras do Feijão caupi (19,4±1,07) determinados por Frota, Soares e Arêas (2008), no entanto, a farinha de MP pode ser considerada fonte de fibras, uma vez que ultrapassou o mínimo de 3 g fibras/100 g de alimento (BRASIL, 1998). As moagens e peneiração que o grão de MP foi submetido podem ser responsáveis por esta diminuição, visto que houve retirada de alguma quantidade da casca da leguminosa neste processamento. Ademais, o processo de extração que a farinha foi submetida pode ter retirado maiores quantidades da casca, por isso houve diferença entre valores obtidos para fibra entre farinha e extrato.

As variações na composição centesimal relatadas pela literatura e em comparação com o presente estudo podem ser justificadas pelas diferentes variedades analisadas e condições de cultivo da leguminosa, como características do solo, temperatura, umidade e volume de chuva (FREIRE FILHO, 2011).

3.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

Os principais ácidos graxos detectados na farinha de MP foram os ácidos mirístico, palmítico e linoleico. Já no extrato, observaram-se maiores percentuais dos ácidos mirístico, palmítico, oleico e linoleico (Tabela 3).

Tabela 2. Perfil de ácidos graxos presentes na farinha e no extrato de *Mucuna pruriens*.

Ácidos graxos	Amostras	
	Farinha	Extrato
Ácido mirístico - C 14:0	52,05 ± 3,3 a	23,8 ± 3,3 b
Ácido palmítico - C 16:0	14,15 ± 1,0 a	12,61 ± 0,4 a
Ácido esteárico - C 18:0	4,82 ± 0,53 a	4,94 ± 0,2 a
Total saturados (%)	71,02	41,35
Ácido oléico - C 18:1	8,02 ± 0,6 b	17,07 ± 0,88 a
Total monoinsaturados (%)	8,02	17,07
Ácido linoléico - C 18:2	18,51 ± 1,5 b	37,46 ± 1,71 a
Ácido linolênico - C 18:3	2,44 ± 0,17 b	4,11 ± 0,13 a
Total polinsaturados (%)	20,95	41,57

Médias ± erro-padrão com letras diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de t de *Student* ($p < 0,05$).

No presente estudo, foi detectado maior concentração de ácidos graxos saturados na farinha de MP e proporção semelhante de ácidos graxos saturados e polinsaturados no extrato de MP, resultados semelhantes foram encontrados por Frota, Soares e Arêas (2008) que analisaram feijão-caupi, e detectaram maior concentração de ácido linoleico, seguido de ácido palmítico e esteárico, de modo que o maior percentual obtido foi de ácidos graxos saturados.

Entre os ácidos graxos de maior concentração na farinha e extrato de MP, os ácidos graxos saturados mirístico e palmítico influenciam de forma negativa o perfil lipídico por elevarem o colesterol total e todas as suas frações, participando do desenvolvimento da aterosclerose. Os ácidos oleico e linoleico, respectivamente monoinsaturado e polinsaturado, de percentuais elevados no extrato de MP, possuem ação antiaterogênica, uma vez que levam à redução do colesterol total e LDL-C, sem reduzir o HDL-C. Além disso, aumentam a vasodilatação e reduzem agregação plaquetária (XAVIER et al., 2013). Os ácidos graxos polinsaturados, presentes em maior concentração no extrato de MP, são considerados essenciais em humanos por não existir biossíntese endógena destes nutrientes. São importantes para manutenção das membranas celulares, funções cerebrais e transmissão de impulsos nervosos, além de participarem da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, síntese da hemoglobina e divisão celular (MARTIN et al., 2006).

A *American Heart Association* (2001) limita o consumo de ácidos graxos saturados em até 7% do total de calorias ingeridas por dia, 20% de monoinsaturados e 10% de polinsaturados.

3.3 COMPOSIÇÃO MINERAL

Na composição mineral da MP destacam-se as quantidades de potássio e ferro na farinha, e potássio e fósforo no extrato, sendo detectado magnésio apenas

no extrato. Não foi detectada presença de nenhum mineral tóxico segundo a RDC n. 269 (BRASIL, 2005) (Tabela 2).

Tabela 3. Composição mineral da farinha e extrato de *Mucuna pruriens*.

Minerais	Farinha (mg/g)	Extrato (mg/g)	*DRI (adulto)
Potássio	635	679	4.700 mg
Ferro	158	79	14 mg
Fósforo	83	93	700 mg
Cálcio	70	68	1.000 mg
Enxofre	38	48	N/A
Zinco	6	34	7 mg
Cobre	3	34	900 µg
Rubídio	0,3	0,3	***N/A
Magnésio	**nd	20	260 mg

*Brasil (2005); ** nd = não detectado; *** N/A = não há ingestão diária recomendada.

Ao comparar-se a concentração dos minerais presentes na farinha ou extrato de MP com os valores propostos pela DRI para adultos (BRASIL, 2005), observa-se que a farinha e o extrato desta leguminosa possuem concentração superior à recomendação para os minerais ferro, cobre e zinco. As duas amostras apresentaram valores superiores a 10% da DRI para os minerais potássio e fósforo. O magnésio foi encontrado apenas no extrato da MP, representando 7,7% das recomendações de ingestão diária. Apenas o cálcio teve concentração menor que 10% da DRI para farinha (7%) e extrato (6,8%). As leguminosas são naturalmente fontes de magnésio, ferro, zinco e cobre (MESQUITA et al., 2007).

Vadivel e Janardhanan (2005) obtiveram maiores concentrações de Potássio (83,51%), seguido de Cálcio (30,45%) e Magnésio (20,88%) e Bhat et al. (2008), encontraram 24,5% de Fósforo, 6,65% de Cálcio e 1,94% Selênio, em *Mucuna pruriens*. Outras leguminosas, como a soja, bastante consumida pela população brasileira, apresenta concentração variável de minerais como cálcio (275 mg/g), fósforo (674 mg/g) e ferro (53 mg/g) (PENHA et al., 2007). Já o feijão, uma importante fonte alimentar brasileira, apresenta 0,72 g de potássio/100g, 1,51 g de cálcio/100g, 0,45 g de fósforo/100g e 126,9 mg de ferro/kg (MESQUITA et al., 2007).

Os minerais desempenham funções importantes e específicas no organismo. O potássio é importante para pacientes cardíacos que desejem reduzir a pressão arterial por meio da dieta (OLMOS; BENSEÑOR, 2001). O ferro destaca-se por participar de reações de oxidação e redução, transporte sanguíneo e respiratório de oxigênio e dióxido de carbono, ativação enzimática (MOURA; CANNIATTI-BRAZACA, 2006). O fósforo participa de funções essenciais do organismo, uma vez que o DNA e o RNA são baseados em fosfatos, fonte de energia sob a forma de ATP, componente da membrana celular, formação de hidroxapatita (componente de dentes e ossos) entre outras (COZZOLINO, 2007). O cálcio tem como principal função o ganho e a manutenção da massa e densidade óssea, transporte transmembrana, transmissão nervosa e contração muscular (PEDROSA; CASTRO, 2005).

3.4 SCREENING FITOQUÍMICO

Observou-se pequena concentração de esteroides e saponinas e moderada concentração de flavonoides na MP (Tabela 3). Manalisha e Chandra (2012)

avaliaram a composição fitoquímica da MP e observaram ausência de saponinas, fraca presença de resinas, taninos, flavonoides, alcaloides, esteroides, fenóis e glicosídeos.

Tabela 4. *Screening* fitoquímico de *Mucuna pruriens*.

Composição fitoquímica	Análise qualitativa
Alcaloides	—
Esteroides	+
Taninos	—
Flavonoides	++
Saponina	+

Dados expressos como ausência (—), fracamente presente (+) ou moderadamente presente (++)

A MP é bastante utilizada como afrodisíaco e estimulante da biossíntese de testosterona (SURESH; PRITHIVIRAJ; PRAKASH, 2009; MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011). Relaciona-se este fato com elevada concentração de esteroides neste grão, visto que os esteroides estimulam a produção de hormônios anabólicos androgênicos, no entanto, no presente estudo observou-se que os esteroides estão fracamente presentes na MP cultivada na região nordeste brasileira.

A análise fitoquímica demonstrou presença moderada de flavonoides no extrato de MP. Os flavonoides consistem em um grande grupo de compostos polifenólicos responsáveis por uma diversidade de atividades farmacológicas relativas à sua atividade antioxidante, induzindo sistemas enzimáticos protetores em humanos contra doenças infecciosas, degenerativas, cardiovasculares e relacionadas à idade. Estes fitoquímicos encontram-se amplamente distribuídos em alimentos de origem vegetal, não podendo ser sintetizados por humanos ou animais, devendo ser consumidos alimentos fontes destes nutrientes na dieta (KUMAR; PANDEI, 2013).

Há uma grande demanda pelo consumo de alimentos ou suplementos alimentares ricos em flavonoides, entretanto, é difícil identificar uma média de consumo dietético deste fitoquímico, uma vez que há uma vasta distribuição em fontes alimentares vegetais (IZZU et al., 2012). Ao mesmo tempo, tem crescido o interesse na produção de alimentos com potencial terapêutico atribuído à presença de flavonoides (KUMAR; PANDEI, 2012), o que pode impulsionar o consumo de MP após a realização de estudos *in vivo* que avaliem a capacidade antioxidante do grão.

As saponinas também são importantes por possuírem diversas atividades importantes para a saúde, demonstrando atividade anticancerígena significativa, antiolesterolêmica, antidiabética e anticancerígena, além de possuir capacidade de reduzir a concentração plasmática de colesterol (PARK et al., 2001). Apesar de tantos efeitos benéficos relativos às saponinas, estas substâncias também são consideradas fatores antinutricionais. Estes compostos são muito frequentes em alimentos de origem vegetal e são consideradas substâncias antinutricionais por diminuírem o valor nutricional dos alimentos, diminuindo a digestibilidade e absorção de nutrientes. Quando em excesso, podem ser tóxicos e levar a efeitos colaterais indesejáveis no organismo (SANTOS, 2006).

Os fatores antinutricionais tem levado a comunidade científica a pesquisar formas de diminuir a concentração ou inativar estes fatores, principalmente pela aplicação de métodos como cocção, torrefação ou secagem, tendo em vista que a

maioria dos fatores antinutricionais apresenta sensibilidade a altas temperaturas. Além destas técnicas, pode-se ainda utilizar fermentação, solubilização alcalina ou precipitação isoelétrica, para os fatores antinutricionais que não apresentam sensibilidade à alta temperatura (BETANCUR-ANCONA et al., 2008).

3.5 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

As amostras avaliadas não apresentaram contaminação por coliformes a 35°C e não foram isolados *S. aureus* e nem *Salmonella* spp. O extrato de MP apresentou contagem de bactérias aeróbias mesófilas de $1,0 \times 10^3$ UFC/g, estando este valor dentro dos padrões estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de $1,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^5$ UFC/g (BRASIL, 2001). A contagem de bolores e leveduras foi de $2,34 \times 10^6$ UFC/g no extrato e 3×10^2 UFC/g na farinha. A farinha e o extrato obtidos da MP não apresentaram contaminação por microrganismos patogênicos e nem deteriorantes e por isso podem ser considerados adequados para o consumo humano.

4 CONCLUSÃO

A farinha e o extrato de *Mucuna pruriens* são fontes de carboidratos, fibras e proteínas e apresentam consideráveis quantidades de ferro, potássio e fósforo. Ademais, apresentam quantidades consideráveis de ácidos graxos essenciais e a presença de flavonoides nesta leguminosa representa possível atividade antioxidante. A avaliação microbiológica indicou boa qualidade do produto e adequado tratamento e manipulação. Estes resultados podem incentivar o potencial de consumo e comercialização desta leguminosa no Brasil.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the nutritional and phytochemical composition and microbiological quality of the legume *Mucuna pruriens* (MP) grown in Brazilian Northeast. Flour and extract of MP, which were evaluated for proximate, mineral and phytochemical composition, were produced and its microbiological quality were evaluated. The flour and extract of MP showed 43.12% and 43.4% of protein, 7% and 7.6% of fat, 38% and 36% of carbohydrate and 5.64 and 2.36% of fibers, respectively. The most abundant minerals in MP flour and extract were potassium (635 and 679 mg/g), iron (158 and 79 mg/g) and phosphorus (83 and 93 mg/g). Presence of flavonoids, steroids and saponins was detected in MP. The main fatty acids found in MP flour and extract were myristic, palmitic, oleic and linoleic acids. The microbiological evaluation did not indicate the presence of pathogenic and deteriorating microorganisms in the samples. We conclude that MP produced in Brazilian Northeast is an alternative food source of carbohydrates, fibers, proteins, essential fatty acids, minerals (potassium, iron and phosphorus) and flavonoids, which may encourage its potential consumer and marketing.

KEY-WORDS: EXTRACT; FLOUR; LEGUMES; MINERALS; PHYTOCHEMICAL.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, N. et al. Testosterone like activity of ethanolic and aqueous extracts of *Mucuna pruriens* seeds and its effects on serum biochemical metabolites in immature male rats. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 32, n. 1, p.60-64, 2012.
- AMEIDA, M. M. T. B. et al. Fertilizantes de leguminosas como fontes alternativas de nitrogênio para produção orgânica de alface. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 6, p. 675-682, 2008.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment Panel III). **The Journal of American Medical Association**, v. 285, p. 2486-2497, 2001.
- AOAC. **Official Methods of Analysis**, 17 ed. Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, 2002.
- BALA, V. et al. Anti-inflammatory, diuretic and antibacterial activities of aerial parts of *Mucuna pruriens* Linn. **International Journal of Pharmacology**, v. 7, n. 4, p. 498-503, 2011.
- BETANCUR-ANCONA, D. et al. Some physicochemical and antinutritional properties of raw flours and protein isolates from *Mucuna pruriens* (velvet bean) and *Canavalia ensiformis* (Jack bean). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, 2008.
- BHAT, R.; SRIDHAR, K. R.; TOMITA-YOKOTANI, K. Effect of ionizing radiation on antinutritional features of velvet bean seeds (*Mucuna pruriens*). **Food chemistry**, v. 103, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes). Brasília, 13 de janeiro de 1998.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº. 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2 de janeiro de 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº. 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Brasília, 22 de setembro de 2005.
- COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. SP: Manole, p. 67-175, 2007.

EZE, E. D. et al. Changes in lipid profile of rats administered with ethanolic leaf extract of *Mucuna pruriens* (Fabaceae). **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 2, p.130-136, 2012.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n.1, p. 497-509, 1957.

FREIRE FILHO, F. R. (Org.). **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

FROTA, K. M. G.; SOARES, R. A. M.; ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 470-476, 2008.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A.. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n.8, p. 47, 1973.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4 ed. Instituto Adolfo Lutz: São Paulo, 2005.

IZZU, V. et al. The effects of dietary flavonoids on the regulation of redox inflammatory networks. **Frontiers in Bioscience** v. 17, p. 2396-2418, 2012.

KUMAR, S.; PANDEY, A.K. Antioxidant, lipo-protective and antibacterial activities of phytoconstituents present in *Solanum xanthocarpum* root. **International Review of Biophysical Chemistry**, v.3, n. 3, p. 42-47, 2012.

KUMAR, S.; PANDEY, A.K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-16, 2013.

LUIZÃO, F. J. Ciclos de nutrientes na Amazônia: respostas às mudanças ambientais e climáticas. **Ciência e Cultura**, v.59, n.3, p. 31-36, 2007.

MAJEKODUNMI, S. O. et al. Evaluation of the anti-diabetic properties of *Mucuna pruriens* seed extract. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.4, n. 8, p. 632-636, 2011.

MANALISHA, D.; CHANDRA, K. J. Preliminary phytochemical analysis and acute oral toxicity study of *Mucuna pruriens* Linn. In albino mice. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 2, p. 181-183, 2012.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MATOS, F. J. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.

- MESQUITA, F. R. et al. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1114-1121, 2007.
- MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 270-276, 2006.
- MUTHU, K.; KRISHNAMOORTHY, P. Evaluation of androgenic activity of *Mucuna pruriens* in male rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 66, p. 15017-15019, 2011.
- NWAOGUIKPE, R. N.; BRAIDE, W.; C. O., UJOWUNDU. The effects of processing on the proximate and phytochemical compositions of *Mucuna pruriens* seeds (velvet beans). **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 10, n. 10, p. 947-951, 2011.
- OLMOS, R. D.; BENSEÑOR, I. M. Dietas e hipertensão arterial: Intersalt e estudo DASH. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, n. 2, p. 221-224, 2001.
- PARK, H.J, et al. Kalopanaxsaponin A is a basic saponin structure for the anti-tumor activity of hederagenin monodesmosides. **Planta Medica**, v. 67, n. 2, p. 118-121, 2001.
- PEDROSA, M. A. C.; CASTRO, M. L. Papel da vitamina D na função neuro-muscular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, vol.49, n.4, p. 495-502, 2005.
- PENHA, L. A. O. et al. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 91-102, 2007.
- RAINA, A. P.; TOMAR, J. B.; DUTTA, M. Variability in *Mucuna pruriens* L. germplasm for L-Dopa, an anti parkinsonian agent. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, n. 6, p. 1207-1212, 2012.
- SANTOS, M.A.T. Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de brócolis, couve-flor e couve. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 2, p. 294-301, 2006.
- SHAHAJI, P. S.; PARNU, S. A. Estrogenic activity of *Mucuna pruriens* in swiss albino mice. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 4, p. 191-193, 2011.
- SHAPIRO, A.; R.; HEANEYB, R. P. Co-dependence of calcium and phosphorus for growth and bone development under conditions of varying deficiency. **Bone**, v. 32, p. 532-540, 2003.
- SIDDHURAJU, B.; BECKER, K. Effect of various indigenous processing methods on the α -galactoside and mono- and disaccharide content of an Indian tribal pulse, *Mucuna pruriens*, var *utilis*. **Journal of the Science of the Food and Agriculture**, v.

8, p. 718-725, 2001.

SURESH, S.; PRITHIVIRAJ, E.; PRAKASH, S. Dose- and time-dependent effects of ethanolic extract of *Mucuna pruriens* Linn. seed on sexual behavior of normal male rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 3, p. 497-501, 2009.

TEIXEIRA, A. P. et al. Determinação de Mn e Zn em arroz empregando espectrometria de fluorescência de raios x de energia dispersiva. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1133-1136, 2012.

THARAKAN, B. et al. Anti-Parkinson botanical *Mucuna pruriens* prevents levodopa induced plasmid and genomic DNA damage. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 12, p. 1124-1126, 2007.

VADIVEL, V.; PUGALENTI, M. Studies on the incorporation of velvet bean (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) as an alternative protein source in poultry feed and its effect on growth performance of broiler chickens. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, n. 7, p. 1367-1376, 2010.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association (APHA), 1992. 1219 p.

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 4, supl. 1, p. 1-36, 2013.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.