

---

# Suplementação com leucina: análise do padrão pressórico e eletrocardiográfico de ratos

*Leucine supplementation: analysis of the pressure and electrocardiographic pattern of rats*

**Bruno Ferreira Gonçalves e Silva<sup>1</sup>, André Alves Lico Mascarin<sup>2</sup>, Alexandre Reis Taveira de Souza<sup>3</sup>, Carlos Alberto da Silva<sup>2</sup>, Paulo Anselmo Nunes Felipe<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Curso de Medicina Veterinária da Universidade Paulista, Campinas-SP, Brasil; <sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Ciências do Movimento Humano da Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba-SP, Brasil; <sup>3</sup> Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paulista, Campinas-SP, Brasil.

---

## Resumo

**Objetivo** – Avaliar a massa do coração, comportamento da pressão arterial e de segmentos eletrocardiográficos após suplementação com leucina. O eletrocardiograma (ECG) é utilizado no diagnóstico de alterações cardíacas, e reflete uma série de alterações funcionais resultando em mudanças na propagação do potencial de ação no músculo cardíaco. Essas alterações funcionais podem ocorrer devido a diversos fatores, dentre eles a suplementação com leucina, aminoácido que compõe o grupo dos aminoácidos de cadeia ramificada e muito utilizado na prática clínica como auxiliar na geração de reservas energéticas musculares e ação anticatabólica no tecido muscular. **Métodos** – Foram utilizados ratos Wistar de 180-220g, alimentados *ad libitum*, ciclo 12 horas, a  $22 \pm 2^\circ$  C, divididos em cinco grupos denominados controle (C); suplementados com leucina 1.35 g/kg/dia durante 7 dias, 15 dias, 30 dias e 60 dias através da via orogástrica, n=10. Para avaliação das ondas e intervalos eletrocardiográficos os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico e conectados aos canais do eletrocardiógrafo *Heart Ware System* interfaciado com um computador. **Resultados** – Nos resultados foi possível observar que não houve modificação na massa do coração, independente do período de tratamento. Por outro lado, foi observado redução tanto na frequência cardíaca quanto na temporização dos segmentos PR, QRS e QTc. **Conclusão** – Concluímos que a suplementação com o aminoácido leucina não promove anabolismo no músculo cardíaco, no entanto, interfere na dinâmica de propagação elétrica no coração, sendo sugerido maior atenção caso seja indicado como suplemento auxiliar para melhora na performance de cardiopatas.

**Descritores:** Eletrocardiograma; Leucina; Ratos wistar

## Abstract

**Objective** – To evaluate the heart mass, blood pressure behavior and electrocardiographic segments after leucine supplementation. The electrocardiogram (ECG) is used in the diagnosis of cardiac alterations and reflects in changes in the propagation of the action potential in the cardiac muscle. These functional alterations can occur due to several factors, among them, the supplementation with leucine, a branched-chain amino acid widely used in clinical practice as an aid in the generation of muscle energy reserves and anticatabolic action in muscle tissue. **Methods** – Male Wistar rats of 180-220g, fed *ad libitum*, cycle 12 hours, at  $22 \pm 2^\circ$  C, divided in five groups called control (C); supplemented with leucine 1.35 g/kg/day for 7 days, 15 days, 30 days and 60 days by orogastric route, n=10. For evaluation of the waves and electrocardiographic intervals the rats were anesthetized with pentobarbital sodium and connected to the channels of the electrocardiograph *Heart Ware System* interfaced with a computer. **Results** – It was possible to observe that there was no change in heart mass, regardless of the treatment period. On the other hand, a reduction in both heart rate and timing of the PR, QRS and QTc segments was observed. **Conclusions** – We concluded that supplementation with the amino acid leucine doesn't promote anabolism in the cardiac muscle, however, it interferes with the electrical propagation dynamics in the cardiac muscle, being suggested more attention if it is indicated as an auxiliary supplement to improve the performance of cardiopaths.

**Descriptors:** Electrocardiography; Leucine; Wistar rats

---

## Introdução

O eletrocardiograma (ECG) é um método eficaz no diagnóstico de alterações na propagação do sinal elétrico na musculatura cardíaca, uma vez que, muitas alterações funcionais geram mudanças na dissipação do potencial de ação no músculo cardíaco alterando as ondas do ECG ou os respectivos intervalos eletrocardiográficos<sup>1</sup>. Neste sentido, dentre as principais alterações classicamente observadas na avaliação eletrocardiográfica destacam-se modificações na amplitude, no tempo de duração, intervalos e segmentos no ECG, desta forma, as anormalidades elétricas podem refletir em modificações anatomo-fisiológicas do músculo cardíaco<sup>2,3</sup>.

O ECG é um método considerado padrão ouro no diagnóstico não invasivo de anormalidades fisiopatológicas e estruturais cardíacas. Dentro do perfil de dissipação do sinal elétrico no músculo cardíaco é consenso que o intervalo PR mostra o tempo de condução nas câmaras atriais, o qual é gerado no nódulo sino atrial sendo representado pela onda P durante a propagação na câmara atrial, que por sua vez, dissemina-se pelo nódulo atrioventricular e sequencialmente pelo complexo QRS indicando a propagação nas câmaras ventriculares. Já o intervalo QT corresponde ao tempo necessário para a completa excitação elétrica e a recuperação dos ventrículos, sendo, portanto, a medida da duração da sístole “elétrica”, ou seja, a duração total da atividade elétrica ventricular<sup>4</sup>.

Recentes estudos tem sugerido que dentre os suplementos que trazem benefícios quimiometabólicos ao músculo esquelético, destacam-se a leucina por atuar como agente regulador do metabolismo proteico, exibindo múltiplas ações, tais como: a capacidade de estimular a síntese proteica e ao mesmo tempo exercer ação anticatabólica via mecanismos envolvendo uma proteína quinase denominada alvo da rapamicina em mamíferos (*Mammalian Target of Rapamycin - mTOR*), além de potencializar a secreção de insulina, o que indica um efeito sinérgico com este hormônio, de forma a ampliar as ações citosólicas da via insulínica<sup>5,6</sup>.

Recentes estudos relacionaram a suplementação com leucina com ajustes morfofuncionais do músculo cardíaco, sendo descrito que este aminoácido promove aumento da biogênese mitocondrial e preserva o tamanho das fibras musculares em condições de proteólise, além disto, já foi descrito que a suplementação com leucina promoveu melhora expressiva na função cardiovascular em ratos com caquexia cardíaca, trazendo como reflexo, o aumento na sobrevivência destes animais<sup>7,8</sup>. O objetivo do presente estudo foi avaliar se a suplementação com leucina pode afetar a frequência cardíaca ou a dinâmica elétrica ativadora do músculo cardíaco, bem como observar se há alteração na massa cardíaca.

## Métodos

Foram utilizados ratos albinos Wistar adquiridos junto à empresa ANILAB® pesando entre 180-220g, os quais foram alimentados com ração e água *ad libitum* sob ciclo fotoperiódico de 12 horas claro/escuro e temperatura controlada de  $22 \pm 2^\circ \text{C}$ . O estudo foi aprovado pela CEUA da UNIMEP pelo protocolo 09/2015. Os ratos foram divididos em 5 grupos experimentais denominados Controle (C); Suplementados com leucina durante 7 dias (L7), Suplementado com leucina 15 dias (L15), Suplementados com leucina 30 dias (L30) e Suplementados com leucina 60 dias (L60). A dose utilizada na suplementação com leucina foi de 1.35 g/kg/dia<sup>9</sup>, através da via orogástrica com sonda de gavagem, sendo  $n=10/\text{grupo}$ . Para a avaliação das ondas e intervalos eletrocardiográficos, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg/ip) baseado em estudo no qual foi demonstrado que os barbitúricos não alteram o perfil elétrico cardiovascular<sup>10</sup>. A seguir, eletrodos conectados aos canais do eletrocardiógrafo *Heart Ware System* interfaciado com um computador, foram aplicados ao corpo do animal para registro das ondas padrão no plano frontal (DI, DII, DIII, aVR, aVL e aVF) com velocidade de 50 mm/s (Figura 1). A avaliação dos dados foi feita por meio de ANOVA, seguido do teste de Tukey,  $p<0,05$ .

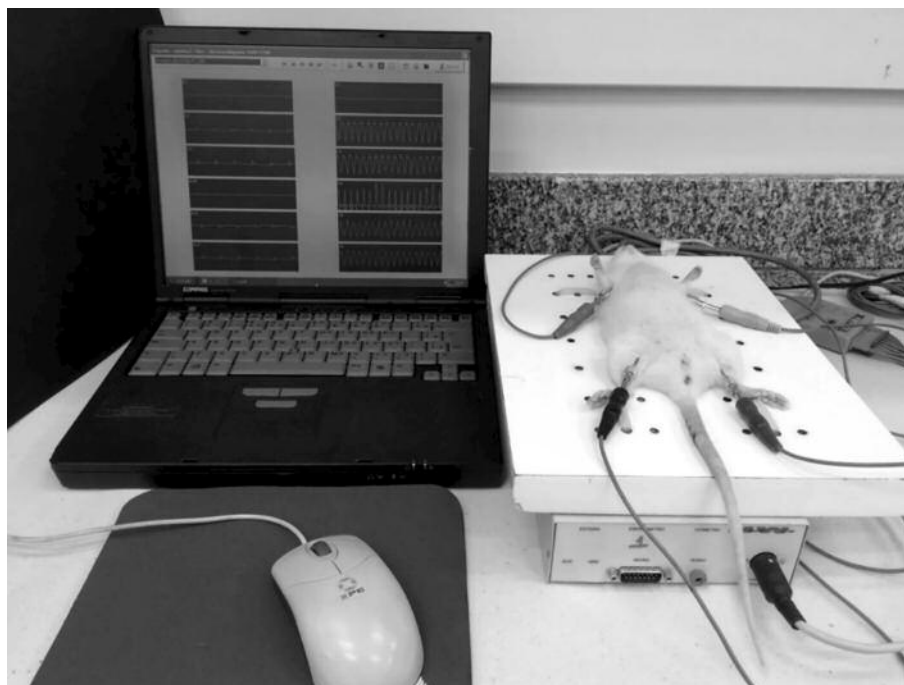


Figura 1. Obtenção do registro eletrocardiográfico através do Sistema Heart Ware

## Resultados

Por se tratar de um aminoácido com ação anabólica iniciou-se avaliando a massa do coração e não foi verificada diferença ao compararmos os diferentes grupos experimentais (Figura 2).

Na análise da frequência cardíaca (FC, bat/min) foi

verificado que no 30º e 60º dia da suplementação houve redução significativa de 20% neste parâmetro, se comparado ao controle, sugerindo que, no músculo cardíaco, haja um efeito temporal vinculado a suplementação com leucina cuja ação converge para a redução na FC com significância na fase crônica do tratamento, como demonstrado na Figura 3.

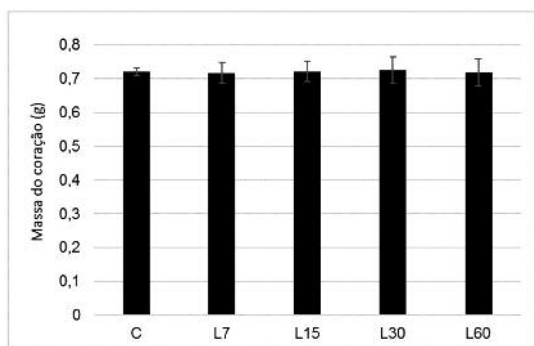


Figura 2. Massa do coração (g) dos grupos controle (C), tratados com o aminoácido leucina na dose de 1.35 g/kg/dia durante 7 dias (L7), 15 dias (L15)

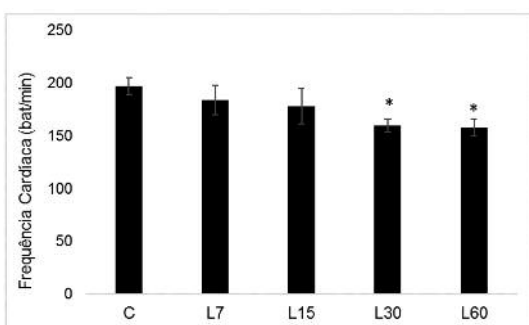


Figura 3. Frequência cardíaca (bat/min) dos grupos controle (C), tratados com o aminoácido leucina na dose de 1.35 g/kg/dia durante 7 dias (L7), 15 dias (L15), trinta dias (L30) e 60 dias (L60). Os valores estão expressos como média  $\pm$  dp, n=10. \*p< 0,05 comparado ao controle

**Tabela 1. Parâmetros eletrocardiográficos representados pelos intervalos PR, QRS, QTc (ms) dos grupos controle (C), tratados com o aminoácido leucina na dose de 1.35 g/kg/dia durante 7 dias (L7), tratados 15 dias (L15), tratados 30 dias (L30) e tratados 60 dias (L60). Os valores estão expressos como média  $\pm$  dp, n=10. \*p<0,05 comparado ao controle**

	C	L7	L15	L30	L60
PR (ms)	27 $\pm$ 3.6	28 $\pm$ 2.4	25 $\pm$ 3.1	34 $\pm$ 2.3*	38 $\pm$ 2.1*
QRS (ms)	63 $\pm$ 2.1	64 $\pm$ 3.0	67 $\pm$ 4.1	79 $\pm$ 3.1*	81 $\pm$ 3.4*
QTc (ms)	326 $\pm$ 39	323 $\pm$ 18	332 $\pm$ 17	357 $\pm$ 4.3*	367 $\pm$ 1.4*

A seguir e dentro do perfil das análises eletrocardiográficas, foi avaliado o comportamento dos segmentos PR, QRS e QTc dos diferentes grupos experimentais, sendo verificado aumento de 26% no segmento PR e no complexo QRS, além de 12% no segmento QTc (Qt corrigido pela fórmula de Bazett's) fato também significativo dentro do período de 30 e 60 dias de suplementação (Tabela 1).

## Discussão

A literatura científica tem demonstrado o interesse de muitos pesquisadores na busca de avaliar a tríade: suplementação, dinâmicas quimiometabólicas e metabolismo do músculo cardíaco<sup>11</sup>. Dentre os diferentes tipos de suplementos disponíveis no mercado, tem sido

descrito que a leucina exerce importantes papéis relacionados ao controle de funções do organismo, em especial a sinalização celular, a regulação de diferentes funções biológicas e nos processos ligados a homeostasia da glicose, dentre outros<sup>12</sup>.

Estudos em ilhotas pancreáticas isoladas tem descrito as etapas citosólicas que determinam o processo secretório da insulina, iniciando pela captação e metabolização da glicose, modificação na relação ATP/ADP propiciando o fechamento dos canais de K<sup>+</sup> de baixa condutância, retenção do K<sup>+</sup> e despolarização celular, fato que promove a abertura dos canais de Ca<sup>2+</sup> voltagem dependente, influxo de cálcio, e de forma associada culmina com a secreção da insulina<sup>13</sup>. Neste aspecto, tem sido descrito que nas células beta pancreáticas, a leucina regula a transcrição genética e a síntese protéica através de vias independentes e dependentes de mTOR, além do que, este aminoácido promove melhora na resposta secretória da insulina em ilhotas de diabéticos, via aumento na expressão dos genes envolvidos na regulação do metabolismo<sup>14,15</sup>.

No aspecto molecular da sinalização insulínica no tecido muscular, é consenso entre diferentes cientistas a forte inter-relação entre leucina e a ativação das vias insulínicas citosólicas, principalmente frente a forte ação deste aminoácido na via da enzima mammalian Target of Rapamycin (mTOR), que é expressivamente importante no processo de síntese proteica<sup>16,17</sup>. Uma vez ativada a mTOR, forma-se a cascata onde outras enzimas internas são estimuladas com destaque a proteína quinase ribossomal S6 e a p70S6K, seguido da ativação da proteína 4E-BP1 (ligante do fator de iniciação eucariótico e eIF4G (fator de iniciação eucariótico), esta cascata enzimática amplifica a ação da leucina favorecendo a transcrição sequencial de sinais que culminam com a síntese proteica<sup>18</sup>.

Uma avaliação direcionada aos efeitos relacionados a suplementação com BCAA (aminoácidos de cadeia ramificada, cujo principal componente é a leucina), no músculo cardíaco indicaram que o aminoácido leucina foi o responsável por aumentar a concentração citosólica do fator de iniciação eIF4B, que é um sinalizador impar na síntese proteica indicando ação também no músculo cardíaco<sup>19</sup>. Neste sentido, avaliações *in vitro* e *in vivo* das ações da leucina no músculo cardíaco demonstraram aumento na atividade da enzima p70S6K e da mTOR atingindo valores 4 vezes maiores<sup>20</sup>.

Neste aspecto, merece especial atenção a possibilidade de a suplementação com leucina promover modificação no padrão de ativação cardíaca, embora que já foi descrito que este aminoácido exerce ação anti-proteólise no músculo e pode ser um agente protetor do coração<sup>21</sup>. Demonstra-se neste trabalho que os grupos tratados com leucina a longo prazo, 30 e 60 dias, não apresentaram modificação na massa do coração, promovendo somente a formação de um novo padrão elétrico constituído de menores velocidades de condução nos diferentes segmentos eletrocardiográficos, acompanhado de menores frequências cardíacas. Estes dados indicam que o tratamento com leucina,

não propicia ganho de massa no coração, porém altera a velocidade de condução elétrica.

No ano de 2005, foi estudado o efeito da leucina no coração de porcos sendo demonstrado que este aminoácido atua como sinalizador nutricional e anticatabólico protetor do coração, fato reiterado neste trabalho onde também não foi observado alteração na massa, em detrimento da suplementação<sup>19</sup>.

Quanto ao efeito observado na frequência cardíaca, é sugestivo que este seja indireto, baseado em estudos que avaliaram a ação da suplementação com BCAA e respostas no sistema nervoso central. Cabe ressaltar que o suplemento BCAA, cuja leucina é o principal aminoácido, ao ser metabolizado participa da síntese de glutamato. Possivelmente esta via metabólica indiretamente promove modificação na condução elétrica no músculo cardíaco, em especial sabe-se que no sistema nervoso central, a metabolização deste aminoácido promove alteração na homeostasia do Sistema Nervoso Autônomo e reflexamente pode remodelar a condução elétrica no coração<sup>22,23</sup>.

## Conclusão

A suplementação com o aminoácido leucina não promove ganho de massa no coração, no entanto, a longo prazo, altera a frequência cardíaca e velocidade de condução do potencial elétrico no músculo cardíaco, merecendo maior atenção, caso se pretenda utilizar a suplementação com este aminoácido, durante atividade física prescrita a cardiopatas.

## Referências

1. Pezolato VA, Mascarin AL, Ferreira RB, Dias R, Silva CA. Electrocardiographic monitoring in the development of Wistar Rats. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2017; 69(1), 39-48.
2. Silva C A, Pardi ACR, Gonçalves TM, Borin SH. Perfil eletrocardiográfico e conteúdo glicogênico muscular de ratos tratados com nandrolona. *Arq Bras Cardiol.* 2010; 95(6):720-5.
3. Goldberger A. *Clinical electrocardiography: a simplified approach.* Elsevier, 2012.
4. Thaler, MS. *ECG Essencial. eletrocardiograma na prática. diário.* 7ª Ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013.
5. Kobayashi H. Modulations of muscle protein metabolism by branched-chain amino acids in normal and muscle-atrophying rats. *J Nutr.* 2006; 136(1): 234S-6S.
6. Wamiti J, Kogi-Makau W, Onyango FE, Ngala S. Leucine supplementation in the management of protein energy malnutrition: A review. *East Afr Med J.* 2017; 94(1): 20-4.
7. Tanada Y, Shioi T, Kato T, Kawamoto A, Okuda J, Kimimura T. Branched-chain amino acids ameliorate heart failure with cardiac cachexia in rats. *Life Sci.* 2015; 137: 20-7, 2015.
8. Toneto AT, Ferreira , Ramos LA, Salomão EM, Tomasin R, Aereas MA, Gomes-Marcondes MC. Nutritional leucine supplementation attenuates cardiac failure in tumour-bearing cachectic animals. *J Cachexia, Sarcopenia Muscle.* 2016; 7(5) : 577-86.
9. Naderi A, Sadeghi M, Sarshin A, Imanipour V, Nazeri SA, Farkhayi F, Willems M. E. Muscle carnosine concentration with the co-ingestion of carbohydrate with  $\beta$ -alanine in male rats. *J Diet-Suppl.* 2017;14(4), 373-9.
10. Kumar S, Kela AK, Mehta VL, Shukla AK. Preferred anesthetic agents in experimental cardiology: A study on rat electrocardiogram. *Indian J. Pharmacol* 1995; 27: 127-9.
11. Toulson MI. Suplementos nutricionais: histórico, classificação, legislação e uso em ambiente esportivo. *Nutr Esp.* 2009; 1-7.
12. Torres-Leal FL, Vianna D, Teodoro GFR, Capitani MDD, Tirapegui, J. Aspectos atuais do efeito da leucina sobre o controle glicêmico e a resistência à insulina. *Nutrire: Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr.* 2010; 35(2), 131-43.
13. Hedekov CJ. Mechanism of glucose-induced insulin secretion. *Physiol Rev.* 1980; 60(2), 442-509.
14. Yang J, Wong RK, Park M. Leucine regulation of glucokinase and ATP synthase sensitizes glucose-induced insulin secretion in pancreatic beta-cells. *Diabetes.* 2006; 55:193-201.
15. Yang J, Chi Y, Burkhardt BR., Guan Y, et al. Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutr Rev.* 2010; 68(5): 270-9.
16. Mata GR, Navarro F. O efeito da suplementação de leucina na síntese proteica muscular. *Rev Bras Nutr Esp.* 2009; 3(17), 367-79.
17. Gonçalves LA. A suplementação de leucina com relação à massa muscular em humanos. *Rev Bras Nutr Esp,* 2013; 7(40): 212-23.
18. Rogero MM, Tirapegui J. Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2008; 44(4): 563-75.
19. Escobar J, Davis TA. Regulation of cardiac and skeletal muscle protein synthesis by individual branched-chain amino acids in neonatal pigs. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 290: 612-21.
20. Canedo CS. Activation of the cardiac mTOR/p70S6K pathway by leucine requires PDK1 and correlates with PRAS40 phosphorylation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010; 298:761-9.
21. Tischler ME, Desautels M, Goldberg AL. Does leucine, leucyl-tRNA, or some metabolite of leucine regulate protein synthesis and degradation in skeletal and cardiac muscle? *J. Biol. Chem.* 1982; 257, 1613-21.
22. Bixel MG, Shimomura Y, Hutson SM, Hamprecht B. Distribution of key enzymes of branched-chain amino acid metabolism in glial and neuronal cells in culture. *J Histochem Cytochem.* 2001; 49: 407-18.
23. Andrew JS, Mac Wood A, Suryawan R, Wallin MC, Willingham SMH. Branched-chain amino acid catabolism: unique segregation of pathway enzymes in organ systems and peripheral nerves *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2004; 286(1): E64-E76.

### Endereço para correspondência:

Bruno Ferreira Gonçalves e Silva  
Rua Salomão Mursi, 381 – Barão Geraldo  
Campinas-SP, CEP 13084-773  
Brasil  
E-mail:brufgsilva@outlook.com

Recebido em 25 de setembro de 2017.  
Aceito em 10 de abril de 2018.