

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**BALANÇO ENERGÉTICO E LEPTINA SÉRICA EM RATOS
RECUPERADOS DA DESNUTRIÇÃO INTRAUTERINA E NA
LACTAÇÃO COM DIETA À BASE DE SOJA.**

LOANDA MARIA GOMES CHEIM

CUIABÁ – MT

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**BALANÇO ENERGÉTICO E LEPTINA SÉRICA EM RATOS
RECUPERADOS DA DESNUTRIÇÃO INTRAUTERINA E NA
LACTAÇÃO COM DIETA À BASE DE SOJA.**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, subárea de
concentração Cirurgia, Nutrição e Metabolismo, da
Universidade Federal de Mato Grosso, para a
obtenção do título de mestre.**

Orientanda: Loanda Maria Gomes Cheim

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Márcia Queiroz Latorraca

CUIABÁ – MT

2006

FICHA CATALOGRÁFICA

F738r Cheim, Loanda Maria Gomes.

Balço energético e leptina sérica em ratos recuperados da desnutrição intrauterina e na lactação com dieta à base de soja. Loanda Maria Gomes Cheim. Cuiabá - 2006.

82 p.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Márcia Queiroz Latorraca.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso. Faculdade de Ciências Médicas. Campus Cuiabá.

1. Leptina sérica 2. Balço energético 3. Dieta à base de soja 4. Recuperação nutricional.

CDU 616.36-002+616-022.3

DEDICATÓRIA

À minha mãe Cleonice, ao meu pai Chein e ao meu irmão Junior, pelo amor, incentivo, compreensão e confiança em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Professora Gisela S. Brunken, minha mestre, amiga e pesquisadora, que sempre demonstrou um entusiasmo contagiante na área da pesquisa e foi um estímulo que me motivou a iniciar o mesmo caminho.

À Professora Márcia Q. Latorraca, pela confiança, oportunidade, companheirismo, orientação, paciência e dedicação no desenvolvimento dos trabalhos; pela sua generosidade e compreensão durante toda esta etapa.

À minha família, tias, primos (as), afilhada, comadre e grupos de amigas, pelo incentivo, confiança, compreensão e apoio.

Às colegas do mestrado Elisângela de A. Oliveira, Cristiane L. P. Ferreira, Gláucia da S. Macêdo e Marciane Milanski; pelo auxílio prestado, companheirismo, colaboração, amizade e momentos de alegria e confiança.

Aos Professores Antônio Carlos Boschero, Everardo M. Carneiro e Vanessa Cristina Arantes; pela prestatividade, parceria e auxílio na determinação das análises.

Ao amigo Celso Roberto Afonso pela confiança, paciência, incentivo e colaboração em todas as etapas.

Ao colega Carlos Henrique Fregadolli, pelo valioso auxílio nas análises estatísticas e contribuição na elaboração do material para apresentação da dissertação.

Às Professoras Nair Honda Kawashita e Marise Auxiliadora de B. Reis, pela importante contribuição na revisão do trabalho, com colocações, abordagens e questionamentos pertinentes e enriquecedores, e apoio técnico durante o experimento.

Aos Professores e demais colegas do Laboratório de Avaliação Biológica de Alimentos, Roberto V. Veloso, Maria Salete F. Martins, Maria Helena Gaiva, Leticia M. I. de Souza, Bárbara L. Botosso e Talita S. S. Gonçalves, pelo companheirismo, colaboração e amizade.

Às Coordenações do Curso de Pós-graduação e de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso, pela confiança e apoio financeiro ao desenvolvimento do meu trabalho.

A todos que contribuíram e me auxiliaram na conquista dessa etapa.

Em especial a Deus, por sempre iluminar meu caminho, proporcionar serenidade e obstinação para concretizar as metas que me proponho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
I - INTRODUÇÃO	11
II - REVISÃO DE LITERATURA	14
1 - LEPTINA E REGULAÇÃO DO BALANÇO ENERGÉTICO.....	15
2 - PROGRAMAÇÃO DO BALANÇO ENERGÉTICO: Hipótese do Fenótipo Econômico.....	18
3 - PAPEL DA SOJA NA REGULAÇÃO DO BALANÇO ENERGÉTICO.....	21
III - JUSTIFICATIVA	27
IV - OBJETIVOS	29
4.1 - Geral	30
4.2 - Específicos	30
V - MATERIAIS E MÉTODOS	32
5.1. Animais	33
5.2. Dietas	34
5.3. Procedimentos Experimentais	38
5.3.1. Determinação da Composição da Carcaça e Balanço Energético.....	39
5.3.2. Determinações Bioquímicas e Hormonal.....	40
5.3.2.1. Proteínas Totais	40
5.3.2.2. Albumina	40
5.3.2.3. Glicose	40
5.3.2.4. Leptina	40
VI - ANÁLISES ESTATÍSTICAS	42
VII - RESULTADOS	44
VIII - DISCUSSÃO	56
IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
MANUSCRITO	82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Composição centesimal das dietas normoprotéica à base de caseína (DNC), hipoprotéica à base de caseína (DHC) e normoprotéica à base de farinha integral de soja micronizada inativa (DFISMI) utilizadas na primeira e na segunda fases experimentais	36
Quadro 2 – Composição nutricional da farinha integral de soja micronizada inativa ...	36
Quadro 3 – Composição centesimal de aminoácidos e de bases nitrogenadas da farinha integral de soja micronizada inativa (FISMI)	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso corporal ao nascer da prole de mães alimentadas com DNC (C) e DHC (HP) durante a gestação; e peso corporal, concentrações séricas, em jejum, de albumina, glicose e leptina, ao desmame (final da primeira fase experimental), da prole de mães alimentadas com DNC (C) e DHC (HP) durante a gestação e a lactação	45
Tabela 2 - Composição da carcaça ao desmame (final da primeira fase experimental) da prole de mães alimentadas com DNC (C) e DHC (HP), durante a gestação e lactação	46
Tabela 3 - Peso corporal inicial; e peso corporal, concentrações séricas de proteína total, albumina, glicose e leptina de ratos adultos mantidos com DNC (CC e RC), e DFISMI (CS e RS) e DHC (HP), após o desmame	48
Tabela 4 - Composição da carcaça de ratos adultos mantidos com DNC (CC e RC), e DFISMI (CS e RS) DHC (HP), após o desmame	50
Tabela 5 - Peso absoluto e relativo dos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET), epididimal (EPI) e perirenal (PERI), de ratos adultos mantidos com DNC (CC e RC), DFISMI (CS e RS) e DHP (HP), após o desmame	52
Tabela 6 - Energia ingerida total (kJ/100g p.c.); e balanço energético de ratos adultos mantidos com DNC (CC e RC), DFISMI (CS e RS) e DHC (HP), após o desmame	55

RESUMO

A desnutrição em fases iniciais da vida pode estar associada à obesidade na vida adulta e dieta à base de soja pode ser benéfica na sua prevenção e tratamento. Foram avaliados a composição corpórea, o balanço energético e a concentração sérica de leptina em ratos adultos desnutridos durante períodos de gestação e de lactação e recuperados com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa (DFISMI). Ratos adultos, prole de mães alimentadas com dieta à base de 17% de proteína (dieta normoprotéica à base de caseína – DNC) ou 6% de proteína (dieta hipoprotéica à base de caseína – DHC) durante a gestação e a lactação, foram mantidos ou recuperados após o desmame com DNC (grupos CC e RC), DFISMI (grupos CS e RS) e com DHC (grupo HP). Após 90d, a ingestão e o gasto energéticos relativos foram maiores, mas a porcentagem de gordura dos depósitos e da carcaça foi menor nos grupos recuperados quando comparados aos grupos controles. A porcentagem de gordura dos depósitos e da carcaça não diferiu entre os grupos RS e RC. Porém, o peso corporal e a porcentagem de proteína da carcaça foram menores no grupo RS quando comparados ao grupo RC, apesar da ingestão e o gasto energéticos relativos similares. Entretanto, o grupo RS apresentou maior peso corporal e porcentagem de proteína da carcaça do que o grupo HP. As concentrações séricas de leptina foram similares em todos os grupos, mas a razão da leptina sérica/gordura corporal foi maior no grupo RS em relação ao grupo RC, sugerindo uma maior eficiência em secretar leptina e/ou resistência ao hormônio. Assim, o modelo experimental não produziu obesidade e a recuperação nutricional com DFISMI não alterou o balanço energético, mas reduziu o peso corporal à custa da proteína da carcaça, possivelmente devido à presença de fatores antinutricionais, que prejudicaram a digestibilidade e a biodisponibilidade da proteína.

Palavras chaves: leptina sérica; balanço energético; dieta à base de farinha de soja; recuperação nutricional.

ABSTRACT

Malnutrition in early life can be associated to obesity in adulthood and soybean diet may be useful on its prevention and treatment. We evaluated body composition, energy balance and serum leptin concentration in adult rats malnourished during pregnancy and lactation periods and recovered with a whole soybean flour diet (WSFD). Adult rats offspring from mothers fed with 17% protein (normal casein diet-NCD) or 6% protein diet (low casein diet-LCD) during pregnancy and lactation were maintained or recovered after weaning with NCD (CC and CR groups), WSFD (SC and SR groups) and with LCD (LP group). After 90d, relative energy intake and expenditure were higher, but percentage of fat pads and carcass was lowering in recovered when compared to control groups. The percentage of fat depots and carcass did not differ between SR and CR groups. However, body weight and percentage of protein carcass, were lower in SR group when compared with CR group, although the relative energy intake and expenditure similar between these groups. However, SR exhibited higher body weight and percentage of protein carcass than LP group. Basal leptin levels were similar in all groups, but the ratio of serum leptin/body fat was higher in SR in relation to CR group, suggesting more efficiency in to secrete leptin and/or hormone resistance. Thus, the experimental model did not produce obesity and the nutritional recovery with WSFD did not alter energy balance, but decreased body weight at the expensive of protein carcass, possibly due to presence of antinutritional factors, which impaired the protein digestibility and bioavailability.

Key Words: serum leptin, energy balance, soybean flour diet, nutritional recovery.

I - INTRODUÇÃO

I – INTRODUÇÃO

Atualmente, cerca de 600 milhões de pessoas no mundo apresentam déficit severo de energia e inanição, enquanto, mais de 300 milhões de pessoas apresentam obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$).¹ Em alguns casos, esses problemas co-existem.² O crescente aumento da obesidade e as razões pelas quais alguns indivíduos apresentam facilidade em ganhar peso é um tópico muito debatido.³

Estudos epidemiológicos mostraram incidência da obesidade maior entre homens cujas mães experimentaram privação alimentar na gravidez durante a segunda guerra mundial.⁴ Além disso, a obesidade abdominal e outras características relacionadas à síndrome metabólica em adultos nascidos com baixo peso foram também documentadas.⁵ Esses achados sugerem que a desnutrição em fases iniciais da vida poderia promover a obesidade na vida adulta.

O peso corporal, a ingestão alimentar e o metabolismo são decisivamente regulados pelo hipotálamo, que integra sinais centrais e periféricos. No hipotálamo, neurônios localizados no eixo ARQ (núcleo arqueado) – PV (paraventricular) – PF/HL (perifornical/ hipotálamo lateral) se comunicam e são sujeitos a influência de diversos fatores periféricos, incluindo a leptina.⁶ A leptina é um hormônio produzido principalmente por células do tecido adiposo⁷ e sua concentração plasmática é proporcional ao volume de massa gorda.⁸ Esse hormônio informa ao hipotálamo a quantidade de energia estocada no tecido adiposo, controlando o apetite e o gasto energético.⁹

Tem sido sugerido que a programação de fatores que determinam a concentração sérica de leptina pela nutrição durante fases precoces pode ser um mecanismo que relaciona a dieta na infância com o risco de obesidade na vida adulta.¹⁰

Dietas isocalóricas, mas restritas em proteínas estão associadas ao aumento de gordura corporal, de concentração sérica de leptina e da ingestão alimentar, que sugere um estado de resistência à leptina.¹¹ Quando ratas são submetidas à restrição alimentar (oferta de 50% dos requerimentos energéticos) durante as duas primeiras semanas de prenhez e são realimentadas durante a terceira semana, os machos da prole desenvolvem hiperfagia e obesidade significantes na vida adulta se mantidos com uma dieta hiperlipídica ou mesmo com dieta padrão (hipolipídica e hiperglicídica).¹²⁻¹⁵ A restrição de proteína e energia durante a lactação aumenta a expressão dos receptores de leptina na pituitária e mantém a concentração sérica de leptina normal na vida adulta.¹⁶ Assim, a nutrição inadequada no início da vida e o tipo de dieta utilizada durante a fase de recuperação parecem ser críticos na determinação da obesidade no adulto.

Consideráveis esforços são dispendidos no intuito de se encontrar uma nova terapia de modo a obter resultados favoráveis contra a obesidade, e a intervenção dietética tem provado ser uma tática benéfica e eficiente na prevenção e no tratamento desta enfermidade. Diversos estudos em animais e humanos mostraram que o consumo de soja reduz o peso e a gordura corporais.¹⁷⁻¹⁹ Estes efeitos foram atribuídos à proteína da soja, às isoflavonas e outros componentes (saponinas, fibras, etc.) os quais agem em conjunto ou separadamente. A soja não reduziu a ingestão alimentar em indivíduos saudáveis^{20,21}, mas aumentou significativamente a atividade da proteína desacopladora 1 (UCP – 1) no tecido adiposo marrom^{22,23}, a qual parece desempenhar uma importante função, mas controversa, na regulação do gasto energético ou termogênese.^{24,25} Além disso, as isoflavonas reduzem as concentrações séricas de leptina em ratos machos obesos²⁶ e inibe a lipogênese e aumenta a lipólise em adipócitos isolados de rato.^{27,28}

Assim, um estudo que avaliasse os efeitos da recuperação nutricional com uma fonte alternativa de proteína, de baixo custo e de grande disponibilidade, assim como a soja em modelo animal considerado propenso a desenvolver obesidade, poderia contribuir para prevenção e tratamento deste agravo.

I – REVISÃO DE LITERATURA

II – REVISÃO DE LITERATURA

1. LEPTINA E REGULAÇÃO DO BALANÇO ENERGÉTICO

A obesidade é um importante problema de saúde em humanos, particularmente nas sociedades ocidentais⁶, e resulta de alterações no balanço energético ou de perturbações no neuroendócrinas.²⁹

O balanço energético refere-se ao equilíbrio entre a ingestão e o gasto energético³⁰, sendo ambos regulados por sinais centrais e periféricos.⁶ O hipotálamo é o principal sítio de integração destes sinais que regulam a homeostase energética. No hipotálamo, os neurônios dos núcleos arqueado (ARQ), paraventricular (PV) e perifornical (PF) produzem peptídeos com efeitos orexígeno e anorexígeno.⁶

A idéia da existência de um fator periférico originado no tecido adiposo que agindo no hipotálamo regularia o peso corporal foi proposta por Kennedy e colaboradores há mais de 50 anos.³¹ Com os experimentos de parabiose, realizados por Coleman e colaboradores, duas décadas depois, constataram a existência de um fator hormonal que agiria como sinalizador da saciedade.³² Este fator hormonal foi finalmente identificado pelo grupo de Friedman em 1994, através da clonagem do gene *ob* em camundongos e humanos. O produto deste gene (gene *ob*) foi chamado de leptina, palavra de origem grega (*leptos*) que significa magro.³³ A descoberta de seu receptor pelo grupo de Tartaglia, em 1995, intensificou as pesquisas sobre a leptina e sobre o seu papel fisiológico na regulação da homeostase energética.³⁴

A produção da leptina ocorre principalmente no tecido adiposo branco e marrom^{7,35,36} e em menor proporção em outros tecidos tais como placenta, epitélio mamário, estômago, músculo e cérebro.³⁷⁻⁴¹

A administração de leptina, tanto centralmente quanto periféricamente, diminui a ingestão alimentar e o peso corporal, tanto em humanos quanto em roedores.⁶ Por isso, inicialmente pensava-se que a obesidade humana tinha origem na deficiência em leptina, entretanto, mutações tanto de leptina quanto de seu receptor *Ob-R* são extremamente raras em humanos.⁴² Mutações no gene *ob* causa início precoce de obesidade severa, com concentração sérica de leptina baixa, apesar da elevada massa de gordura, uma hiperfagia marcante devido a uma saciedade prejudicada, hipersulinemia e hígonoadismo hipotalâmico.⁴³⁻⁴⁵

A concentração sérica de leptina correlaciona-se com o conteúdo de gordura corporal e está usualmente aumentada em indivíduos obesos, assim como a expressão de seu gene.^{9,46} Apesar dessa correlação, há grande variação nas concentrações de plasmáticas de leptina entre indivíduos com composição corporal similar sugerindo que outros fatores modulam a secreção deste hormônio.^{46,47}

Observam-se diferenças nas concentrações de leptina circulantes em função do gênero, sendo de três a quatro vezes maiores em mulheres que em homens com um índice de massa corporal similar.^{48,49} É possível que a diferença de gênero resulte da inibição por andrógenos e/ou diferenças na distribuição de gordura corporal entre homens e mulheres.⁵⁰

Em crianças e adultos, a leptina está negativamente associada à testosterona em machos e positivamente relacionada com o estrógeno em fêmeas. Essas associações foram posteriormente explicadas pela quantidade de gordura^{51,52}, uma vez que a liberação de leptina é maior pelas células adiposas de fêmeas do que pelas células adiposas de machos.⁵³

Além da massa adiposa, outros fatores que aumentam a concentração plasmática de leptina são: o excesso de alimentação, insulina, glicocorticóides, exposição aguda a somatotropina, endotoxina, fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina 1 e na insuficiência renal. O jejum, as catecolaminas, os andrógenos, o AMPc, a exposição crônica a somatotropina e a exposição ao frio são fatores que diminuem a concentração de leptina no plasma sanguíneo. Os hormônios da tireóide diminuem a secreção de leptina em roedores, mas o seu efeito em humanos ainda é controverso.³⁶ A secreção e a concentração sérica de leptina são influenciadas pela ingestão energética. A concentração sérica de leptina diminui na presença de dietas hipocalóricas^{54,55} e durante o jejum^{55,56} mesmo antes que ocorram mudanças na concentração de gordura corporal. Esse mecanismo permite que o processo de alimentação se inicie antes que os estoques de gordura corporal sejam depletados. Em contraste, a concentração sérica de leptina aumenta após re-alimentação^{57,58}, durante a superalimentação⁵⁸, e com a ingestão de dietas hiperlipídica e hiperglicídicas que aumentam a lipogênese e conseqüentemente estimulam a síntese de leptina.^{59,60}

O receptor de leptina existe em pelo menos seis isoformas e são encontrados em uma variedade de tecidos. A forma *Ob-Rb* chamada de “forma longa”, considerada a mais importante na transmissão do sinal da leptina nas células³⁶, é predominantemente localizada no hipotálamo e a “forma curta” (*Ob-Rs*) predomina em muitos tecidos periféricos.³⁴

Agindo centralmente, no hipotálamo, a leptina diminui a expressão de peptídeos orexigênicos (estimuladores da ingestão alimentar), tais como: neuropeptídeo Y (NPY), peptídeo relacionado a agouti (AgRP) e aumenta a expressão de peptídeos anorexígenos, como: Pró-Ópio-Melanocortina (POMC) e Cocaine and amphetamine-

regulated transcript (CART), resultando na diminuição do apetite.³⁶ Assim, ao ser sintetizada e secretada pelo tecido adiposo branco no sangue, a leptina é transportada para o cérebro via sistema saturável⁶¹, onde atua causando a liberação ou inibição de fatores que resultam na redução da ingestão alimentar. Adicionalmente promove o aumento do gasto energético devido, ao menos em parte, ao aumento da termogênese no tecido adiposo marrom (em roedores) e da atividade física. Além disso, a leptina (e talvez outros fatores) atua por *feedback* negativo, inibindo a expressão do seu próprio gene.⁶²

Apesar das diferenças estruturais da leptina, insulina e de seus receptores, esses hormônios exercem efeitos sobrepostos no núcleo ARQ do hipotálamo. Assim, defeitos tanto nas sinalizações da leptina quanto da insulina no cérebro, resultam em hiperfagia, alterações da homeostase da glicose e do balanço energético.⁶³

2. PROGRAMAÇÃO DO BALANÇO ENERGÉTICO:

Hipótese do “Fenótipo Econômico”

Alguns estudos têm dado suporte à hipótese de que a desnutrição nas fases iniciais da vida promove a obesidade na vida adulta. Essa hipótese tem se baseado em estudos epidemiológicos, que mostram elevada incidência de obesidade entre homens cujas mães experimentaram privação alimentar durante a gravidez nos períodos de fome na Segunda Guerra Mundial.⁴ Barker et al. (1993) também mostraram que adultos nascidos com baixo peso desenvolveram a obesidade abdominal e outras características fortemente associadas à Síndrome Metabólica.⁵

A influência da inadequação nutricional sobre o crescimento e desenvolvimento fetal e neonatal e sua relação com o aparecimento de doenças metabólicas na vida adulta têm merecido intensa investigação científica nas últimas décadas. A “hipótese do fenótipo da economia” formulada, nos anos 90 por Barker et al. (1993), tenta explicar essa associação. De acordo com esta hipótese, condição nutricional desfavorável durante as fases críticas de desenvolvimento promoveria uma “programação metabólica” que durante a vida fetal e neonatal garantiria a sobrevivência do indivíduo, mas predisporia para o aparecimento de doenças na maturidade.⁵

Estudos experimentais têm investigado o impacto da desnutrição materna em fetos neonatos, sobre os padrões de crescimento pós-natal, secreção de insulina, sensibilidade dos tecidos hepático, muscular e adiposo à insulina e tolerância à glicose⁶⁴⁻⁶⁹ e confirmado a hipótese do fenótipo econômico. Uma série de estudos também tem investigado a possibilidade da desnutrição, em períodos críticos de desenvolvimento, alterar os fatores centrais e periféricos reguladores do balanço energético contribuindo para o aparecimento da obesidade na vida adulta.

Considerando que a leptina é um dos sinais periféricos reguladores do balanço energético, grande ênfase tem sido dada às concentrações desse hormônio e os seus efeitos sobre o comportamento alimentar e o gasto energético em modelos de desnutrição em fases críticas do desenvolvimento. Observou-se que adultos com baixo peso ao nascer têm concentrações séricas de leptina maiores do que seria esperada para o seu grau de obesidade, uma indicação de resistência ao hormônio.⁷⁰ Por outro lado, a razão entre leptina e massa gordurosa é significativamente maior em adultos que na infância receberam uma fórmula padrão enriquecida com nutrientes do que aqueles que receberam uma fórmula padrão ou leite materno. Esses autores concluíram que a

programação da concentração de leptina pela nutrição em fases críticas de desenvolvimento pode ser um dos mecanismos que contribui para a obesidade na vida adulta.¹⁰

Estudos experimentais com roedores têm mostrado que a quantidade de alimento consumido durante a lactação tem um papel importante na determinação da ingestão alimentar na vida adulta.⁷¹ Supernutrição durante a lactação promove um aumento de peso e deposição de gordura corporal precoce, além de hiperfagia, obesidade, hiperglicemia, hiperinsulinemia, hiperleptinemia e resistência à insulina.⁷²⁻⁷⁴ Nestes animais submetidos à supernutrição durante a lactação, quando adultos jovens, a leptina tem um menor efeito inibitório sobre os neurônios estimuladores do apetite do ARQ, enquanto a insulina e a leptina tende a exercer maior ação inibitória sobre o VMN.^{75,76} Os neurônios deste núcleo também apresentam resposta alterada em ambos neuropeptídeos orexigênicos (NPY e AgRP) e anorexigênicos (α MSH, CART) do PV.⁷⁷⁻⁸⁰

Quando ratas são subnutridas durante as primeiras duas semanas de prenhez (oferta de 50% dos requerimentos energéticos) e são realimentadas durante a terceira semana, os machos da prole desenvolvem hiperfagia e obesidade significativas quando mantidos com uma dieta hiperlipídica.¹²⁻¹⁵ O início da obesidade é observada aos 50 dias de idade e a realimentação durante a terceira semana de prenhez é crítica para a indução da obesidade pós-natal.⁸⁰ Quando a nutrição materna é restrita em 30% da ingestão dos animais controles durante toda a prenhez, a prole foi menor durante toda a vida pós-natal, mas teve um aumento na massa de gordura retroperitoneal relativa aos 100 dias de idade. A ingestão alimentar da prole de ratas subnutridas, mas amamentadas por mães alimentadas com dieta *ad libitum*, foi maior após o desmame, aumentou com

o envelhecimento e intensificou pela nutrição hipercalórica pós-natal.⁸² Ainda não é claro se há alterações associadas à rede hipotalâmica reguladora do apetite nestes animais.⁸³

A restrição protéica mantida durante a gestação e a lactação está associada com hipoinsulinemia, concentrações séricas de leptina normais e um aumento na concentração do NPY nos núcleos ARQ, PV e HL. Contudo existem menos neurônios imunopositivos NPY no núcleo ARQ dessa prole. Portanto, estes autores têm proposto que a hipoplasia de neurônios que expressam peptídeos orexígenos tais como NPY é resultado da hipoinsulinemia pré-natal enquanto a hiperplasia destes neurônios é consequência da hiperinsulinemia pré-natal.⁸⁴

Em roedores, acredita-se que a glicose, a insulina e a leptina, oriundas da circulação materna ou presentes no seu leite, exerçam influência dominante sobre o desenvolvimento das redes neurais das regiões reguladoras do apetite e que o período pós-natal imediato é de grande importância para a programação da ingestão alimentar a longo prazo.⁸⁵

Em geral, animais submetidos à restrição protéica, após o desmame, apresentam hiperfagia, a qual é acompanhada por uma diminuição na eficiência alimentar e aumento no gasto energético em tentativa de dissipar o excesso de energia.^{11,86} Tem sido sugerido que, animais em crescimento submetido à restrição protéica aumentam a ingestão alimentar em uma tentativa de satisfazer o requerimento de nitrogênio e aminoácidos essenciais para o crescimento do seu tecido magro, tendo como resultado o excesso de energia depositado como gordura.⁸⁶⁻⁸⁹

A resistência à leptina¹¹ e a superexpressão do gene de NPY (um potente indutor do consumo alimentar e do acúmulo de gordura corporal)⁸⁵ são outras explicações plausíveis para a alteração do comportamento alimentar verificado nesses animais.

Alterações da homeostase energética que resultam em aumento da adiposidade, estão inseridas no conjunto de evidências que mostra uma associação positiva entre desnutrição intra-uterina e na lactação e desordens metabólicas na maturidade. Parece que as vias de regulação central da ingestão de alimentar são alvos vulneráveis à instalação de desorganizações persistentes, decorrentes da desnutrição nestes períodos críticos da vida fetal.

3. PAPEL DA SOJA NA REGULAÇÃO DO BALANÇO ENERGÉTICO

A soja - *Glycine Max (L.) Merril* – é uma importante planta para a nutrição humana e animal, além de ser muito utilizada com propósitos industriais. Aproximadamente 60% de todos os alimentos processados contêm ingredientes derivados da soja. Apesar de ser deficiente em aminoácidos sulfurados como metionina e cistina, a soja contém grande quantidade de proteína (aproximadamente 38%); 18% de gordura; 30% de carboidratos; 14% de umidade, cinzas e outros componentes secundários. A soja também é uma importante fonte de vários minerais (Fe, Zn, Mg, K, Ca, Mn, e Se); vitaminas (A, B1, B2, B6 e ácido fólico); fitoestrógenos e fibras.⁹⁰

A soja possui fatores antinutricionais, comumente encontrados em plantas, que reduzem a biodisponibilidade da sua proteína.⁹¹ Desses, os mais importantes e mais extensivamente estudados são os inibidores de proteases, os quais inibem as enzimas proteolíticas reduzindo a digestibilidade dos alimentos; o ácido fítico, as isoflavonas e as saponinas são outros fatores antinutricionais também encontrados na soja.⁹² Os

fatores antinutricionais podem ser minimizados pelo tratamento térmico, mas não completamente eliminados. Em geral, os produtos à base de soja comercializados são submetidos ao tratamento térmico e apresentam atividade inibitória da tripsina 20% menor do que a soja crua.⁹³

Além do seu alto valor nutricional, a soja apresenta ação preventiva e/ou terapêutica sobre uma série de doenças, sendo considerada como um alimento funcional. Esse termo é aplicado para alimentos ou ingredientes que além de terem funções nutricionais básicas, produzem efeitos fisiológicos e/ou metabólicos que são benéficos à saúde, quando consumidos como parte de uma dieta habitual, sendo seguros para o consumo sem a necessidade de uma supervisão médica.^{94,95} Grande parte dos efeitos biológicos benéficos atribuídos à soja se deve a alguns fatores antinutricionais, como as isoflavonas e saponinas.⁹⁶

Os estudos sobre o efeito antiobesidade da proteína da soja (PS) têm mostrado resultados controversos. Ratos mantidos com dieta à base de PS apresentaram concentrações séricas de insulina e gordura corporal significativamente reduzidas.^{18,19} Em camundongos geneticamente obesos (Yellow KK) a dieta a base de proteína isolada de soja (PIS) e de seu hidrolizado (PIS-H) foi mais efetiva em reduzir o peso corporal e o peso do tecido adiposo perirenal do que a dieta à base de proteína do soro do leite e seu hidrolizado. A redução da gordura corporal por dieta à base de PIS e PIS-H foi também observada em ratos que se tornaram obesos devido a uma dieta hiperlipídica.⁹⁷

Em estudo com humanos, Jenkins et al. (1989) observaram uma perda de peso maior em indivíduos obesos após consumo de dieta hipocalórica à base de PS do que após o uso de uma dieta hipocalórica à base de caseína.¹⁷ Posteriormente, Bosello et al. (1998) mostraram que em humanos adultos obesos (60% acima do peso ideal), a dieta

hipocalórica (375 Kcal/dia durante 15 dias seguida por uma dieta com 425 Kcal/dia durante 60 dias) com PS produziu perda de peso similar a uma dieta com mesmo valor calórico cuja fonte protéica era caseína. No entanto, os indivíduos que receberam dieta à base de PS tiveram uma melhora perfil lipídico (redução dos colesterol total, LDL-colesterol, VLDL-colesterol e triglicérides) do que aqueles que receberam uma dieta à base de caseína. Assim, a redução do peso pareceu ser devido à dieta hipocalórica não havendo relação com a fonte de proteína.⁹⁸ Além disso, em indivíduos saudáveis, variando a fonte de proteína (PS, ovo, albumina do ovo, caseína, gelatina, leguminosa e glúten), em uma refeição mista, não afetou o comportamento alimentar no que se refere ao poder de saciedade.^{20,21}

Os estudos em humanos e animais têm atribuído o efeito benéfico da soja, para o tratamento da obesidade e do diabetes mellitus, aos fitoestrôgenos (ligninas e isoflavonas), às saponinas e aos inibidores de tripsina, às fibras, à proteína ou a sua composição de aminoácidos, e a composição de ácidos graxos. Um ou outro componente pode ter efeito mais ativo que o outro, e pode exercer seu efeito benéfico agindo isoladamente, sinergicamente o de modo aditivo.⁹⁹

Estudo realizado com mulheres eutróficas, que se encontravam na fase de pós-menopausa, mostrou que o consumo das isoflavonas, genisteína e daidezeína, foram associados com menores índices de massa corporal e insulinemia de jejum, e concentrações séricas de HDL-colesterol maiores.¹⁰⁰

Em adipócitos isolados de roedores, a genisteína e a daidezeína inibiram a lipogênese e estimularam a lipólise.^{27,28} Também em roedores, as saponinas da soja preveniram a obesidade.¹⁰⁰

Os mecanismos pelos quais a soja exerce seus efeitos benéficos sobre a prevenção e tratamento da obesidade ainda não são completamente conhecidos. A maioria dos estudos realizados tem avaliado o efeito antiobesidade da PS e das isoflavonas. Com relação à PS, estudos experimentais têm sugerido que a redução da gordura corporal se deve às alterações no balanço hormonal, que, por sua vez, acelera o metabolismo lipídico. A PS afetou a conversão de tiroxina (T4) à triiodotironina (T3), aumentou a concentração sérica total de tiroxina e a concentração do hormônio estimulante da tireóide.¹⁰²⁻¹⁰⁴ A redução da gordura corporal, pode também resultar do aumento da termogênese devido a aumentada atividade da proteína desacopladora 1 (UCP1)²², hipótese essa reforçada pelo aumento do peso do tecido adiposo marrom (TAM).¹⁰⁵

As isoflavonas parecem ter efeito sobre a taxa de metabolismo basal⁹⁹, sobre o metabolismo lipídico no tecido adiposo^{27,99}, sobre a ingestão de alimentos e água²³, e sobre a secreção de leptina.^{23,106}

Ratos machos Long – Evans, alimentados com dieta suplementada com fitoestrógenos, apresentaram ingestão hídrica e alimentar maiores em comparação àqueles mantidos com uma dieta padrão sem fitoestrógenos. Esses animais também exibiram concentrações séricas dos hormônios da tireóide maiores, mas leptinemia, insulinemia e pesos corporais significativamente menores em comparação aos controles.²³

Em adipócitos isolados de ratos, a presença de genisteína (0,01; 0,3; 0,6 e 1 mmol/l) inibiu a síntese de novo lipídios de novo a partir da glicose e do acetato na ausência e na presença de insulina e estimulou a lipólise.¹⁰⁷ Em experimento similar, a genisteína (0,1 e 1 mmol/l) aumentou a lipólise basal e, em menor concentração (0,01

mmol/l) aumentou a lipólise estimulada por epinefrina. Também, diminuiu a síntese de lipídios basal a partir da glicose induzida pela insulina, mas não teve efeito sobre a piruvato desidrogenase ou glicogênio sintase estimulada pela insulina.¹⁰⁸

É bem documentado que fatores que aumentam o conteúdo do AMP cíclico (AMPC) nos adipócitos diminuem a concentração de leptina sérica^{109,110} e reduzem a sua liberação a partir de adipócitos isolados.¹¹¹⁻¹¹³ Como consequência da concentração aumentada do conteúdo de AMPC, a proteína quinase A (PKA) sofre ativação e a lipólise é aumentada.¹¹⁴ Resultados de experimentos anteriores revelaram a ação inibitória da genisteína sobre a fosfodiesterase AMPC nos adipócitos.¹¹⁵ Szkudelski et al. (2005) observaram que a ação inibitória da genisteína sobre a secreção de leptina ocorreu, predominantemente, devido à inibição da formação de piruvato e, conseqüentemente, do metabolismo da glicose.¹⁰⁶ As implicações da redução da leptina sérica sobre o balanço energético na presença de genisteína foram pouco estudadas até o momento.⁹⁹

Finalmente, a soja possui elevado conteúdo de fibras que ajuda no controle do peso corporal.¹¹⁷ De acordo com Blundell & Burley (1987), as fibras alimentares reduzem a ingestão energética por induzir a saciedade.¹¹⁸ As maneiras pelas quais as fibras dietéticas influenciam a saciedade estão relacionadas com as propriedades físico-químicas, particularmente sua capacidade de produzir viscosidade e aumentar de volume. As fibras que formam dispersão coloidal viscosa, quando hidratadas, afetam aspectos múltiplos da função intestinal, tais como esvaziamento gástrico, tempo de trânsito no intestino delgado e digestão e absorção dos nutrientes.¹¹⁹ Portanto, as fibras dietéticas têm a capacidade de modificar as fases cefálica, gástrica e intestinal dos processos de ingestão, digestão e absorção, influenciando na saciedade.

III - JUSTIFICATIVA

III – JUSTIFICATIVA

Em humanos e em animais adultos, o peso corporal tende a permanecer constante dentro de uma escala relativamente estreita, mesmo ocorrendo grandes flutuações diárias na quantidade de alimento consumido. Apesar disso, nas duas últimas décadas, a obesidade se tornou um problema grave de saúde mundial. As razões para a crescente incidência dessa enfermidade e a busca por condutas preventivas e terapêuticas têm despertado grande interesse entre os pesquisadores da área.

A hipótese de que carências nutricionais em fases críticas do desenvolvimento (vida intra-uterina e lactação) poderiam contribuir para o surgimento da obesidade na vida adulta tem sido confirmada por estudos epidemiológicos realizados em diferentes grupos populacionais. As deficiências nutricionais que tornam o indivíduo suscetível à obesidade não são completamente desconhecidas. Grande atenção tem sido dada à restrição protéica porque os aminoácidos são importantes para o crescimento fetal e pelo fato de alimentos ricos em proteínas serem escassos e caros em comunidades que apresentam alta prevalência de obesidade.

Devido ao seu elevado valor nutricional e pelo seu conteúdo de isoflavonas e de fibras, a soja tem sido considerada um alimento funcional e benéfico na prevenção e tratamento da obesidade.

O presente estudo pretendeu avaliar o papel desse alimento funcional na prevenção e tratamento da obesidade em modelo experimental de restrição protéica.

IV - OBJETIVOS

IV – OBJETIVOS

4.1. GERAL

Avaliar a composição corporal, a concentração sérica de leptina e o balanço energético em ratos adultos submetidos à restrição protéica na vida intra-uterina e na lactação, e recuperados com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa.

4.2. ESPECÍFICOS

- Determinar o efeito da restrição protéica na vida intra-uterina e na lactação sobre o peso corporal ao nascer e ao desmame.
- Determinar o efeito da recuperação nutricional com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa sobre o peso corporal em ratos adultos.
- Determinar as concentrações séricas de albumina, glicose e leptina em ratos recém desmamados submetidos à restrição protéica na vida intra-uterina e na lactação, e em ratos adultos após recuperação nutricional com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa.
- Verificar as concentrações séricas de proteínas totais em ratos adultos após a recuperação nutricional com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa.
- Verificar o consumo alimentar dos ratos durante a fase de recuperação nutricional com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa.
- Determinar a composição da carcaça em ratos recém desmamados submetidos à restrição protéica durante a vida intra-uterina e em ratos adultos após recuperação nutricional com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa.

- Determinar os pesos dos depósitos de gordura epididimal, retroperitoneal, perirenal e abdominal total em ratos adultos recuperados com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa.

- Calcular o balanço energético em ratos adultos recuperados com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa.

- Correlacionar a concentração sérica de leptina com a ingestão e o gasto energéticos em ratos adultos recuperados com dieta à base de farinha integral de soja micronizada inativa.

V - MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas de procedimentos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1996)¹²⁰, adaptado pela Universidade Federal de Mato Grosso, e o guia prático de material de biotério do International Committee on Laboratory Animals (ICLA). O estudo foi conduzido no Laboratório de Avaliação Biológica de Alimentos do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Mato Grosso.

5.1. Animais

Foram utilizadas ratas virgens adultas da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade Albinos, ordem Rodentia Mammalia, família Muridae), com 90 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso.

O acasalamento dos animais (4 fêmeas e 1 macho) foi realizado em gaiolas coletivas de polipropileno, medindo 37,0 x 31,0 x 16,0 cm, com tampa de material galvanizado, e confirmado pela presença de espermatozóides no esfregaço vaginal.

A primeira fase do experimento iniciou com a indução à desnutrição, fêmeas grávidas foram separadas aleatoriamente em dois grupos e mantidas individualmente do primeiro dia de prenhez até o último dia de lactação com dietas isocalóricas: contendo 17% ou 6% de caseína (DNC e DHC, respectivamente). A prole de mães alimentadas com DNC, durante a gestação até o final da lactação, foi denominada de grupo controle (C) e a prole de mães alimentadas com DHC, durante a gestação até o final da lactação, foi denominada de grupo hipoprotéico (HP). Ao desmame, os animais foram divididos

em cinco grupos, iniciando-se a fase de recuperação nutricional (segunda fase experimental).

Os grupos foram avaliados de acordo com a dieta recebida e com o estado nutricional pregresso:

- Controle Caseína (CC): ratos adultos prole de mães alimentadas com DNC, durante a prenhez e lactação, e mantidos com a mesma dieta após o desmame;
- Controle Soja (CS): ratos adultos prole de mães alimentadas com DNC, durante a prenhez e lactação, e mantidos com DFISMI após o desmame;
- Recuperado Caseína (RC): ratos adultos prole de mães alimentadas com DHC, durante a prenhez e lactação, e recuperados com DNC após o desmame;
- Recuperado Soja (RS): ratos adultos prole de mães alimentadas com DHC, durante a prenhez e lactação, e recuperados com DFISMI após o desmame;
- Hipoprotéico (HP): ratos adultos prole de mães alimentadas com DHC, durante a prenhez e a lactação, mantidos com a mesma dieta após o desmame.

Do começo ao fim do experimento, os ratos foram mantidos em gaiolas individuais e receberam dieta e água *ad libitum*. A temperatura do ambiente foi mantida em aproximadamente 25 °C, umidade relativa de 55% e ciclo de luz de 12 horas claro e 12 horas escuro.

5.2. Dietas

A composição das dietas utilizadas durante a primeira fase (indução da desnutrição) e segunda fase (recuperação nutricional) experimental está descrita no Quadro 1.

Mães, durante a prenhez e a lactação, e prole lactentes alimentadas com dieta DNC (grupos C da primeira fase) e os grupos CC e RC (ratos adultos da segunda fase) receberam dieta isocalórica à base de caseína, contendo 17% de proteína, adequada para alimentação de roedores nas fases de crescimento, prenhez e lactação, segundo as recomendações da AIN-93G (*American Institute of Nutrition*).¹²¹

Mães durante a prenhez e a lactação, e prole lactentes alimentadas com dieta DHC (grupo HP da primeira fase) e grupo HP da segunda fase (ratos adultos), receberam dieta isocalórica à base de caseína, contendo 6% de proteína, que teve a caseína substituída por carboidratos, sendo mantidas as proporções de amido, amido dextrinizado e sacarose, bem como a de L-cistina em relação ao teor de caseína, e as concentrações dos demais nutrientes.

O grupo RS (ratos adultos da segunda fase) recebeu DFISMI isocalórica, contendo 17% de proteína. A DFISMI seguiu as recomendações da AIN-93G, sendo a caseína, o óleo de soja e a fibra, substituídos pela farinha integral de soja, e mantido em 17% o teor de proteína da dieta. Foram realizados ajustes na dieta à base de farinha integral de soja para compensar o teor de hidratos de carbono, lipídios e fibras presentes na farinha.

A farinha integral de soja micronizada inativa (FISMI) é obtida por processamento industrial (tratamento térmico, descascamento, pré-moagem e micronização), para reduzir o sistema enzimático (atividade da enzima uréase) e fator anti-tripisina (fator antinutricional), atingindo 80% do valor nutricional da caseína animal. O valor calórico e nutricional, e a composição de aminoácidos da FISMI encontram-se descritas nos Quadros 2 e 3, respectivamente.

Quadro 1 – Composição centesimal das dietas normoprotéica à base de caseína (DNC), hipoprotéica à base de caseína (DHC) e normoprotéica à base de farinha integral de soja micronizada inativa (DFISMI) utilizadas na primeira e segunda fases experimentais

Ingredientes	DNC (17% proteína)	DHC (6% proteína)	DFISMI (17% proteína)
Caseína (84% proteína)	202,0	71,5	-
FISMI	-	-	415,0
Amido de milho	397,0	480,0	312,2
Amido de milho dextrinizado	130,5	159,0	103,7
Sacarose	100,0	121,0	78,6
Óleo de soja	70,0	70,0	-
Fibras	50,0	50,0	40,0
Mistura de minerais (AIN-93)G*	35,0	35,0	35,0
Mistura de vitaminas (AIN-93)G*	10,0	10,0	10,0
L-cistina	3,0	1,0	3,0
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5

* Composição detalhada, verificar Reeves (1993)

Quadro 2 – Composição nutricional da farinha integral de soja micronizada inativa (FISMI)

Componentes	100 g
Valor Calórico, Kcal	455,0
Proteínas	41,0
Carboidratos	25,5
Gorduras Totais	21,0
Fibra alimentar, g	2,0
Isoflavonóides, mg	100,0

(DINAL 4.3260.0003.01-2)

Quadro 3 – Composição centesimal de aminoácidos e de bases nitrogenadas da FISMI em comparação à caseína

Aminoácidos	% Aminoácidos	
	FISMI	Caseína
Lisina	2,55	6,82
Histidina	1,03	2,41
Amônia	0,80	-
Arginina	3,22	3,28
Ácido Aspártico	4,76	3,23
Treonina	1,62	3,12
Serina	2,26	4,31
Ácido Glutâmico	7,60	15,90
Prolina	2,05	8,30
Glicina	1,66	1,35
Alanina	1,75	2,11
Cistina	0,39	0,40
Valina	1,75	3,94
Metionina	0,58	0,71
Isoleucina	1,69	2,90
Leucina	3,16	6,01
Tirosina	1,46	3,86
Fenilalanina	2,05	3,65
Triptofano	0,52	-

(DINAL 4.3260.0003.01-2)

Todas as dietas foram elaboradas na forma de pó, sendo os ingredientes secos pesados em balança eletrônicas marca Marte (modelo A500, com precisão de 0,01g) e Bioprecisa (modelo FA2104N, com precisão de 0,0001g), peneirados (malha 200) e

homogeneizados em maseira marca Lieme (modelo AI, capacidade 25kg, basculante MBI Stand, voltagem 110/220V, Frequência 60HZ). As dietas foram preparadas em quantidade suficiente para todo o estudo, acondicionadas em recipientes de polipropileno hermeticamente fechados e armazenadas a 5 °C.

5.3. Procedimentos experimentais

Imediatamente após o nascimento, verificou-se o número de crias, o sexo e o peso corporal (em balança eletrônica, marca Bioprecisa, modelo FA2104N, com precisão de 0,0001g). A partir dos três dias de vida, as ninhadas foram reduzidas a oito filhotes com a finalidade de padronizar as condições experimentais. O desmame ocorreu aos 28 dias (final da primeira fase experimental), seis filhotes machos de cada grupo foram sacrificados para análises bioquímicas e hormonais e mensuração da composição da carcaça. Os machos remanescentes foram alocados aleatoriamente em cinco grupos (início da segunda fase experimental, fase de recuperação nutricional) e mantidos até os 90 dias de vida.

Durante a fase de crescimento pós-desmame, o peso corporal foi aferido semanalmente e as medidas de consumo alimentar foram registradas diariamente. A ingestão alimentar absoluta foi calculada pela diferença obtida entre a quantidade de dieta oferecida e a dieta rejeitada após 48 horas. As pesagens foram efetuadas em balança eletrônica marca Marte (modelo A500, com precisão de 0,01g).

As amostras de sangue coletadas após sacrifício, dos animais recém-desmamados e adultos, foram centrifugadas para obtenção de soro, o qual foi armazenado em freezer a -20°C, para subsequente determinação de leptina por ensaio

imunoenzimático. As determinações das concentrações séricas de proteínas totais, albumina e glicose foram realizadas imediatamente após a coleta.

Após laparotomia mediana, as carcaças foram evisceradas para determinação química da composição corpórea. Dos ratos adultos foram removidos e mensurados o peso fresco dos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET), epididimal (EPI), perirenal (PERI).

5.3.1. Determinação da composição da carcaça e balanço energético

As carcaças evisceradas foram mantidas em estufa a 80°C até peso constante. O teor de água das carcaças foi obtido subtraindo do peso da carcaça fresca o peso da carcaça seca e fria. Em seguida, a carcaça seca foi transferida para um extrator de gordura soxlet e desengordurada através da lavagem contínua com éter de petróleo. O conteúdo de gordura foi então calculado subtraindo do peso da carcaça seca, a massa livre de gordura. Para obtenção do teor de cinzas a massa livre de gordura foi triturada e peneirada, e uma alíquota foi mantida em mufla a 550°C até incineração confirmada pelo constante do material. O conteúdo de proteína foi determinado pela subtração da água, gordura e cinzas do peso da carcaça fresca.

Para o cálculo da energia das carcaças e da ingestão energética foram considerados 16,74 kJ/g de carboidratos e proteínas e 37,7 kJ/g de gordura. A linha de base de energia das carcaças foi estimada pela relação entre os componentes das carcaças dos ratos recém desmamados sob tratamento dietético similar. A partir da diferença entre a composição das carcaças de ratos adultos e a composição das carcaças de ratos recém desmamados foram obtidas as seguintes variáveis: ganho de energia como lipídeo, ganho de energia como proteína, ganho de energia total, eficiência

energética (a razão entre a energia ganha e a energia ingerida x 100), eficiência protéica (a razão entre o ganho de peso corporal pela ingestão protéica) e o gasto energético (a diferença entre ingestão de energia e o ganho de energia).

5.3.2. Determinações bioquímicas e hormonal

5.3.2.1. Proteínas totais

A determinação de proteínas totais foi realizada utilizando o reativo de biureto modificado (Wolfson et al., 1948). A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro modelo 395, marca Micronal, em comprimento de onda de 545nm.

5.3.2.2. Albumina

Foi determinada pelo método colorimétrico do verde de bromocresol. Foram adicionados 0,01mL de soro, 1mL do reativo de cor. As absorbâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro a 600nm (Doumas et al., 1971).

5.3.2.3. Glicose

Foi determinada pelo método enzimático da glicose oxidase-peroxidase. A 1,0mL de reativo contendo fenol 2,5mM, 4 (p-benzoquinona monoimino) fenazona 1,14mM, tampão Tris 0,04mM, glicose-oxidase 2,7U/mL foram adicionados 0,01mL de soro. Após 15 minutos de incubação em banho-maria a 37°C, as absorbâncias das amostras e do padrão foram lidas em espectrofotômetro a 505nm (Trinder, 1969).

5.3.2.4. Leptina

As concentrações séricas de leptina foram determinadas por ensaio imunoenzimático usando o kit comercialmente disponível (Kit Crystal Chem Inc., Chigago, IL, USA). Poços de microplaca revestidos com anticorpo anti-leptina de rato foram inicialmente lavados por duas vezes com 300 μ L de tampão de lavagem. Em cada poço foram pipetados 45 μ L de solução diluente de amostra, 50 μ L de anticorpo de cobaia anti-leptina sérica de ratos e 5 μ L de amostra ou curva padrão de leptina de rato (0, 200, 400, 800, 1600, 3200, 6400 e 12800pg/mL). Após incubação por 20 horas em uma temperatura de 4°C, a microplaca foi lavada 5 vezes com tampão de lavagem. Foram adicionados 100 μ L de um conjugado enzimático anti-IgG de cobaias e incubado por 3 horas a 4°C. O conteúdo de cada poço foi aspirado e lavado 7 vezes com 300 μ L de solução de lavagem, seguido da adição de 100 μ L de solução de extrato enzimático que reagiu por 30 minutos em temperatura ambiente na ausência de luz. A reação enzimática foi bloqueada pela adição de 100 μ L de uma solução de bloqueio. A leitura foi realizada em um leitor de microplacas dentro de 30 minutos (medição do comprimento de onda: 450nm, subtraindo o comprimento de onda: 630nm). A concentração de leptina sérica foi calculada a partir de uma curva padrão e os resultados expressos em pg/mL.

VI - ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados estão apresentados em média e desvio-padrão com o número de animais indicados entre parênteses.

Quando comparando dois grupos, os resultados foram avaliados pelo teste t de Student para amostras independentes.

Ao comparar os grupos CC, CS, RC e RS, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) a dois fatores (estado nutricional prévio e efeito da dieta). Os mesmos dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA) a um fator, comparando os grupos RC, RS e HP para verificar se as dietas utilizadas foram eficientes para promover a recuperação nutricional. Quando necessário, essas análises foram complementadas por testes de comparações múltiplas de médias (teste de Tukey).

Todas essas análises foram precedidas do teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias. Quando necessário, os dados com variâncias heterogêneas e sem distribuição normal foram inicialmente transformados (logarítmica – Log_{10} ou Ln da variável) para correção da heterogeneidade ou anormalidade (Sokal & Rohlf, 1995).¹²⁶

A análise de correlação linear simples foi usada para verificar a relação entre a concentração sérica de leptina e a ingestão e gasto energéticos.

Em todos os casos estabeleceu-se um nível de significância para a rejeição da hipótese de nulidade de 5% ($p < 0,05$).

Para análise dos resultados utilizou-se o programa “Statistica for Windows”, versão 4.3, 1993 (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

VII - RESULTADOS

VII – RESULTADOS

Ao nascer o grupo HP teve peso corporal menor do que o grupo C ($p < 0,0001$). Ao desmame (final da primeira fase experimental) o grupo HP teve peso corporal menor, cerca de 3,7 vezes, do que o grupo C, e apresentou hipoalbuminemia ($p < 0,002$). As concentrações séricas de leptina e glicose não diferiram entre os grupos (Tabela 1).

Tabela 1 - Peso corporal ao nascer da prole de mães alimentadas com DNC (C) e DHC (HP) durante a gestação; e peso corporal, concentrações séricas, em jejum, de albumina, glicose e leptina, ao desmame (final da primeira fase experimental), da prole de mães

Variáveis	Grupos	
	C	HP
	Ao nascer	
Peso corporal (g)	5,3±0,2 (06)	4,9±0,2* (04)
	Ao desmame	
Peso corporal (g)	103±9 (06)	28±4* (06)
Albumina (g/L)	37±6 (06)	23±5* (06)
Glicose (mmol/L)	5,0±0,9 (06)	5,4±1,2 (06)
Leptina (pg/ml)	3598±1286 (06)	2759±755 (06)

alimentadas com DNC (C) e DHC (HP) durante a gestação e a lactação

Valores em média ± desvio-padrão do número de ratos em parênteses

* Indica valores em média significativamente diferentes (Teste t não-pareado; $p < 0,05$)

O peso da carcaça do grupo HP foi também 3,7 vezes menor quando comparado ao do grupo C. A restrição protéica interferiu significativamente na composição química

da carcaça: os conteúdos de cinzas, água, proteína e gordura da carcaça do grupo HP foram, respectivamente 2,5; 3,3; 3,7 e 4,7 vezes menor em relação ao grupo C ($p < 0,0001$). Quando expressos em porcentagem da carcaça, o grupo HP exibiu conteúdos de lipídeo 1,3 vezes menor ($p < 0,05$) e de cinza 1,4 vezes maior ($p < 0,0001$) em comparação ao grupo C. Nenhuma diferença entre os grupos foi evidente quando os conteúdos de água e de proteína foram expressos relativos ao peso da carcaça (Tabela 2).

Tabela 2 - Composição da carcaça ao desmame (final da primeira fase experimental) da prole de mães alimentadas com DNC (C) e DHC (HP) durante a gestação e lactação

Variáveis	Grupos	
	C (6)	HP (6)
	G	
Carcaça fresca	75±7	21±4*
Proteína	14,0±1,4	3,8±0,4*
Lipídeo	11,4±0,8	2,4±0,7*
Água	47±5	14±3*
Cinza	2,3±0,2	0,9±0,1*
	g/100g de peso da carcaça	
Proteína	18,8±0,4	18,4±2,1
Lipídeo	15,4±1,7	11,7±3,0*
Água	62,7±1,4	65,5±3,5
Cinza	3,1±0,1	4,4±0,5*

Valores em média ± desvio-padrão do número de ratos em parênteses.

* Indica valores em média significativamente diferentes (Teste t não-pareado; $p \leq 0,05$)

No início da fase de recuperação nutricional, os grupos RC, RS e HP tiveram pesos corporais similares e, em todos os casos, estes foram significativamente menores em relação aos grupos CC e CS. Ao final do período experimental, o peso corporal foi significativamente influenciado pelo estado nutricional antes da fase de recuperação ($F_{1,26}=173,53$; $p<0,0001$) e pela dieta usada durante a recuperação ($F_{1,26}=12,73$; $p<0,05$), mas não houve interação entre estes dois efeitos ($F_{1,26}=0,008$; $p>0,05$). Assim, os pesos corporais final, após recuperação nutricional, dos grupos RC e RS foram menores em relação aos grupos CC e CS. Os grupos mantidos, após o desmame, com DFISMI (CS e RS) tiveram pesos corporais menores quando comparados com os alimentados com DNC (CC e RC). Contudo, o grupo RS apresentou peso corporal final maior do que o grupo HP ($p<0,001$), o qual teve média de peso significativamente menor em relação ao grupo RC ($p<0,05$) (Tabela 3). As concentrações séricas de albumina, proteínas totais e glicose não foram significativamente influenciadas pelo estado nutricional progresso, pela dieta utilizada durante a recuperação, assim como pela interação entre esses dois fatores. Quando se avaliou a recuperação nutricional, verificou-se que os grupos RS e RC apresentaram concentrações séricas de albumina e proteínas totais similares, mas, significativamente maiores em comparação ao grupo HP ($p<0,01$ e $p<0,001$, respectivamente). Nenhuma diferença entre esses grupos foi observada quando se avaliaram as concentrações séricas de glicose e leptina (Tabela 3).

Tabela 3 - Peso corporal inicial; e peso corporal, concentrações séricas de proteína total, albumina, glicose e leptina de ratos adultos mantidos com DNC (CC e RC), e DFISMI

Variáveis	Grupos				
	CC (8)	CS (8)	RC (7)	RS (7)	HP (7)
Peso cor. inicial (g)	182±22	189±12	42±11	45±10	42±11
Peso cor. final (g)	431±27	387±51 [§]	266±24 ^{*a}	220±25 ^{*§b}	114±35 ^c
Proteína total (g/L)	63±16	66±3	67±3 ^a	64±4 ^a	54±4 ^b
Albumina (g/L)	31±5	33±4	29±2 ^a	31±8 ^a	18±8 ^b
Glicose (mmol/L)	7,8±1,3	8,1±0,7	7,8±1,0	9,0±2,8	6,9±3,2
Leptina (pg/ml)	1906±1977	2407±1472	1230±656	2240±2009	2014±1584

(CS e RS) e DHC (HP), após o desmame

Valores em médias ± desvio-padrão do número de ratos em parênteses. Médias com letras sobrescritas em maiúsculo são significativamente diferentes, segundo análise de variância a um fator (ANOVA), seguido do Teste Tukey ($p \leq 0,05$)

* Diferença em relação aos ratos controles (ANOVA a dois fatores)

§ Diferença em relação aos ratos mantidos com caseína (ANOVA a dois fatores)

O estado nutricional progresso e a dieta, utilizada durante a fase de recuperação, afetaram significativamente o peso da carcaça ($F_{1,26}=155,46$; $p < 0,0001$ e $F_{1,26}=7,60$; $p < 0,05$; respectivamente); os conteúdos de gordura ($F_{1,26}=48,68$; $p < 0,0001$ e $F_{1,26}=5,87$; $p < 0,05$; respectivamente) e de proteína da carcaça ($F_{1,26}=35,66$; $p < 0,0001$ e $F_{1,26}=9,23$; $p < 0,001$; respectivamente) (Tabela 4). Assim, ratos submetidos à restrição protéica e mantidos, após o desmame, com DFISMI tiveram essas variáveis significativamente menores do que aqueles cujas mães foram alimentadas com dieta normoprotéica e aqueles mantidos com uma dieta à base de caseína. Os conteúdos de água e de cinza da

carcaça foram afetados somente pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=88,81$; $p<0,0001$ e $F_{1,26}=36,80$; $p<0,0001$; respectivamente), sendo observado menores pesos destes componentes nos grupos RC e RS em relação aos grupos CC e CS (Tabela 4). Não houve interação entre estado nutricional progresso e dieta utilizada durante a recuperação em todas as variáveis descritas acima.

Ao avaliar a recuperação nutricional, o peso da carcaça fresca, e os conteúdos de proteína e de água foram, significativamente, maiores no grupo RS em comparação ao grupo HP, mas o primeiro grupo apresentou essas variáveis significativamente menores em relação ao grupo RC. O conteúdo de lipídeo da carcaça foi similar nos grupos RS e HP e, significativamente, menor no grupo RC ($p<0,05$ e $p<0,01$, respectivamente). Em contraste, o teor de cinza nos grupos RS e RC foi igual e, significativamente, menor quando comparado com o grupo HP (Tabela 4).

A proporção de água da carcaça foi afetada pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=12,41$; $p<0,01$) e pela dieta utilizada durante a recuperação ($F_{1,26}=11,91$; $p<0,01$), mas não houve interação entre esses fatores ($F_{1,26}=0,22$; $p=0,64$). Portanto, a porcentagem de água em ratos previamente desnutridos, e naqueles mantidos, após o desmame, com DFISMI foi maior do que naqueles, cujas mães foram alimentadas com dieta normoprotéica e os mantidos com dieta à base de caseína.

Nenhuma diferença foi observada entre os grupos quando o conteúdo de proteína da carcaça foi expresso por 100 g de peso corporal (Tabela 4). A proporção de gordura da carcaça foi afetada somente pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=15,00$; $p<0,001$). Assim, os grupos RC e RS exibiram proporção de gordura da carcaça menor do que os grupos CC e CS. A porcentagem de cinza foi afetada pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=16,11$; $p<0,001$) e pela interação entre este e dieta utilizada na fase de

recuperação ($F_{1,26}=12,41$; $p<0,01$). O grupo RS teve porcentagem de cinza significativamente maior em comparação aos grupos RC, CS e CC ($p<0,05$).

Ao avaliar o efeito da recuperação nutricional, verificou-se que a porcentagem de lipídeo e água da carcaça não diferiu entre os grupos RS, RC e HP. A porcentagem de cinza da carcaça foi similar nos grupos RS e HP e significativamente maior em relação ao grupo RC ($p<0,01$). A proporção de proteína da carcaça do grupo RS foi maior comparada ao grupo HP ($p<0,001$), mas menor em relação ao grupo RC ($p<0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Composição da carcaça de ratos adultos mantidos com DNC (CC e RC), e DFISMI (CS e RS) DHC (HP), após o desmame

Variáveis	Grupos				
	CC (8)	CS (8)	RC (7)	RS (7)	HP (7)
	G				
Carcaça fresca	318±42	300±27 [§]	199±16 ^{*a}	159±18 ^{*§b}	80±29 ^c
Proteína	76±5	70±17 [§]	50±3 ^{*a}	38±4 ^{*§b}	17±6 ^c
Lipídeo	45±10	36±14 [§]	19±8 ^{*a}	11±3 ^{*§b}	8±5 ^b
Água	187±35	187±15	124±7 ^{*a}	103±12 ^{*b}	51±16 ^c
Cinza	10±1	8±2	6±1 ^{*a}	6±1 ^{*a}	4±1 ^b
	g/100g de peso da carcaça				
Proteína	24,2±2,9	23,1±5,1	25,0±0,6 ^a	24,0±0,4 ^b	21,9±0,9 ^c
Lipídeo	14,2±3,0	12,0±5,0	9,6±3,3 [*]	6,9±1,0 [*]	9,3±3,8
Água	58,4±4,2	62,1±1,2 [§]	62,2±2,4 [*]	65,0±0,9 ^{*§}	64,1±2,6
Cinza	3,2±0,6 ^A	2,8±0,6 ^A	3,2±0,4 ^{Ab}	4,1±0,2 ^{Ba}	4,7±0,7 ^a

Valores em médias \pm desvio-padrão do número de ratos em parênteses. Médias com letras sobrescritas em maiúsculo são significativamente diferentes, segundo ANOVA a dois fatores, seguido do Teste Tukey ($p \leq 0,05$) e com letras sobrescritas minúsculas são significativamente diferentes, segundo análise de variância a um fator (ANOVA), seguido do Teste Tukey ($p \leq 0,05$)

* Diferença em relação aos ratos controles (ANOVA a dois fatores)

§ Diferença em relação aos ratos mantidos com caseína (ANOVA a dois fatores)

Os pesos absolutos dos tecidos adiposos RET e EPI foram significativamente afetados pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=114,15$; $p < 0,0001$ e $F_{1,26}=75,10$; $p < 0,0001$; respectivamente) e pela dieta durante a recuperação ($F_{1,26}=18,96$; $p < 0,001$ e $F_{1,26}=15,99$; $p < 0,001$; respectivamente). Quando expressas em relação a 100 g de peso corporal, essas variáveis também foram afetadas pelo primeiro ($F_{1,26}=41,52$; $p < 0,0001$ e $F_{1,26}=12,39$; $p < 0,01$; respectivamente) e último efeitos ($F_{1,26}=13,84$; $p < 0,001$ e $F_{1,26}=10,31$; $p < 0,01$; respectivamente). Não houve interação entre esses dois efeitos em ambos os valores absolutos e relativos dos pesos dos tecidos adiposos RET ($F_{1,26}=1,06$; $p > 0,05$ e $F_{1,26}=0,05$; $p > 0,05$; respectivamente) e EPI ($F_{1,26}=0,34$; $p > 0,05$ e $F_{1,26}=0,0004$; $p > 0,05$; respectivamente). Assim, os ratos previamente desnutridos e os mantidos com DFISMI, após o desmame, tiveram essas variáveis, significativamente, menores em relação aqueles cujas mães foram alimentadas com dieta normoprotéica e os mantidos com dieta à base de caseína. O peso absoluto do tecido adiposo PERI foi, significativamente, afetado pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=91,76$; $p < 0,0001$) e pela dieta durante a fase de recuperação ($F_{1,26}=18,76$; $p < 0,001$), assim como pela interação entre esses dois fatores ($F_{1,26}=4,36$; $p < 0,05$). Os grupos RS e RC tiveram pesos do tecido PERI similares e, significativamente, menores do que os grupos CS e CC ($p < 0,01$). O peso relativo do tecido PERI foi afetado pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=32,51$; $p < 0,0001$) e pela dieta durante a recuperação ($F_{1,26}=12,48$; $p < 0,01$), mas não houve interação entre esses fatores ($F_{1,26}=2,49$; $p = 0,126$). Assim, ratos adultos, submetidos à restrição protéica durante fases iniciais da vida e aqueles

mantidos com DFISMI tiveram pesos relativos do tecido adiposo PERI menores em relação aos ratos controles e aqueles mantidos com dieta à base de caseína, após o desmame.

No que diz respeito à recuperação nutricional, observou-se que o grupo RS apresentou pesos absolutos dos tecidos EPI e RET similares aos do grupo HP e, significativamente, menores em relação aos do grupo RC ($p < 0,05$). O peso relativo do tecido adiposo PERI do grupo RS não diferiu em relação aos dos grupos HP e RC. Nenhuma diferença foi observada, entre esses três grupos, em relação aos pesos relativos dos tecidos adiposos RET e EPI (Tabela 5).

Tabela 5 - Peso absoluto e relativo dos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET), epididimal (EPI) e perirenal (PERI), de ratos adultos mantidos com DNC (CC e RC), DFISMI (CS e RS) e DHP (HP), após o desmame

Variáveis	Grupos				
	CC (8)	CS (8)	RC (7)	RS (7)	HP (7)
	G				
RET	9,93±1,38	7,16±1,57 [§]	3,90±1,75 ^{*a}	2,18±0,65 ^{*§b}	1,22±1,10 ^b
EPI	7,97±1,05	5,97±1,42 [§]	3,93±1,37 ^{*a}	2,44±0,80 ^{*§b}	1,28±0,88 ^b
PERI	3,80±0,73 ^A	2,46±0,49 ^B	1,37±0,6 ^{Ca}	0,90±0,36 ^{Cab}	0,43±0,32 ^b
	g/100g				
RET	2,30±0,23	1,78±0,34 [§]	1,43±0,54 [*]	0,98±0,22 ^{*§}	0,92±0,61
EPI	1,84±0,20	1,48±0,31 [§]	1,45±0,39 [*]	1,09±0,28 ^{*§}	1,01±0,44
PERI	0,87±0,13	0,61±0,10 [§]	0,50±0,20 [*]	0,40±0,13 ^{*§}	0,34±0,15

Valores em médias \pm desvio-padrão do número de ratos em parênteses. Médias com letras sobrescritas em maiúsculo são significativamente diferentes, segundo ANOVA a dois fatores, seguido do Teste Tukey ($p \leq 0,05$) e com letras sobrescritas minúsculas são significativamente diferentes, segundo análise de variância a um fator (ANOVA), seguido do Teste Tukey ($p \leq 0,05$)

* Diferença em relação aos ratos controles (ANOVA a dois fatores)

§ Diferença em relação aos ratos mantidos com caseína (ANOVA a dois fatores)

A razão entre a concentração sérica de leptina pela gordura corporal total, i.e., a soma dos depósitos de gordura adicionada ao peso da gordura da carcaça, foi afetada pelo estado nutricional prévio ($F_{1,26}=7,6$; $p < 0,01$) e pela dieta usada durante a recuperação nutricional ($F_{1,26}=10,23$; $p < 0,01$), mas não pela interação entre esses dois fatores. Ratos previamente desnutridos e aqueles mantidos, após o desmame, com DFISMI tiveram essa variável maior do que os ratos controles e aqueles mantidos com dieta à base de caseína. A razão entre a concentração sérica de leptina pela gordura corporal total foi similar entre os grupos RS e HP e, significativamente, maior quando comparada ao grupo RC ($p < 0,01$).

A ingestão de energia total durante a fase de recuperação foi afetada pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=188,93$; $p < 0,0001$) e pelo tipo de dieta usada durante a recuperação ($F_{1,26}=11,19$; $p < 0,01$), mas não houve interação entre esses fatores ($F_{1,26}=0,02$; $p = 0,889$). Dessa forma, estas variáveis foram menores nos grupos RS e RC quando comparadas com os grupos CC e CS durante a prenhez e a lactação. Também, os grupos CS e RS tiveram essas variáveis menores do que os grupos CC e RC. Durante a fase de recuperação, a ingestão de energia total foi similar nos grupos RS e RC e, significativamente, maior em comparação ao grupo HP. Quando expresso por grama de peso corporal, a ingestão de energética foi afetada somente pelo estado nutricional progresso ($F_{1,26}=37,58$; $p < 0,0001$). Assim, os grupos RS e RC tiveram ingestão energética similar e, significativamente, menor em relação ao grupo HP ($p < 0,001$).

O estado nutricional pregresso e a dieta utilizada, após o desmame, influenciaram a concentração de energia da carcaça ($F_{1,26}=144,56$; $p<0,0001$ e $F_{1,26}=16,24$; $p<0,001$; respectivamente), o ganho de energia total ($F_{1,26}=60,01$; $p<0,0001$ e $F_{1,26}=16,24$; $p<0,001$; respectivamente), ganho como lipídeo ($F_{1,26}=20,20$; $p<0,001$ e $F_{1,26}=5,87$; $p<0,05$; respectivamente), ganho como proteína ($F_{1,26}=13,65$; $p<0,01$ e $F_{1,26}=6,13$; $p<0,05$; respectivamente), bem como o gasto energético calculado total ($F_{1,26}=144,68$; $p<0,0001$ e $F_{1,26}=4,91$; $p<0,05$; respectivamente), gasto energético calculado relativo ($F_{1,26}=30,08$; $p<0,0001$ e $F_{1,26}=5,0$; $p<0,05$; respectivamente) e a eficiência energética ($F_{1,26}=7,73$; $p<0,01$ e $F_{1,26}=8,57$; $p<0,01$; respectivamente). Ratos adultos submetidos à restrição protéica, nas fases iniciais da vida, e mantidos com DFISMI após o desmame, tiveram valores menores em todas as variáveis analisadas, quando comparados com as crias de mães alimentadas, durante a prenhez e a lactação, com dieta normoprotéica e aqueles ratos alimentados com caseína após o desmame, exceto o gasto energético calculado relativo que foi maior em ambas as situações. Além disso, a energia total da carcaça, o ganho de energia, o ganho de energia como proteína e eficiência energética foram menores no grupo RS em relação ao grupo RC ($p<0,05$), mas maior em relação ao grupo HP ($p<0,05$). O ganho de energia como lipídeos foi similar entre os grupos RS e HP e, significativamente, menor em relação ao grupo RC ($p<0,05$). Nos grupos RS e RC, o gasto energético calculado não diferiu e foi, significativamente, maior em relação ao grupo HP ($p<0,05$) (Tabela 6). O grupo RS apresentou razão de eficiência protéica (1,74) significativamente menor do que o grupo RC (1,97) (Teste t não pareado, $p<0,01$).

A relação entre concentrações séricas de leptina e gasto energético, assim como a ingestão energética não diferiu, estatisticamente, em todos os grupos ($r=0,17$, $p<0,308$; $r=0,16$, $p<0,344$, respectivamente).

Tabela 6 - Energia ingerida total (kJ/100g p.c.); e balanço energético de ratos adultos mantidos com DNC (CC e RC), DFISMI (CS e RS) e DHC (HP), após o desmame

Variáveis	Grupos				
	CC (8)	CS (8)	RC (7)	RS (7)	HP (7)
	kJ				
Energia ingerida total	15496±870	14329±1433 [§]	10543±783 ^{*a}	9275±624 ^{*§a}	7195±1779 ^b
Energia da carcaça	2971±365	2519±375 [§]	1565±336 ^{*a}	1056±165 ^{*§b}	603±308 ^c
Cálculo da energia de base	665±41	665±41	155±30	155±30	155±30
Ganho de energia	2306±365	1854±375 [§]	1410±336 ^{*a}	901±165 ^{*§b}	448±308 ^c
Ganho como lipídeo	1268±373	923±537 [§]	641±30 ^{a*}	326±100 ^{*§b}	218±206 ^b
Ganho como proteína	1038±87	931±290 [§]	769±56 ^{*a}	575±67 ^{*§b}	230±105 ^c
Cálculo da energia gasta ¹	13257±662	12521±1521 [§]	9178±512 ^{*a}	8404±532 ^{*§a}	6694±1583 ^b
Eficiência energética ²	61±8	55±15 [§]	55±10 ^{*a}	40±6 ^{*§b}	25±15 ^c

Valores em médias ± desvio-padrão do número de ratos em parênteses. Médias com letras sobrescritas são significativamente diferentes, segundo análise de variância a um fator (ANOVA), seguido do Teste Tukey ($p \leq 0,05$)

¹ Energia gasta foi calculada pelo método do balanço (energia gasta = energia ingerida – ganho de energia)

² Eficiência energética foi calculada como (ganho de energia/energia ingerida) x 100

* Diferença em relação aos ratos controles (ANOVA a dois fatores)

§ Diferença em relação aos ratos mantidos com caseína (ANOVA a dois fatores)

VIII – DISCUSSÃO

O presente estudo observou que a restrição protéica durante a vida intra-uterina e a lactação conduziu ao baixo peso ao nascer e comprometeu o crescimento durante a amamentação, reforçando as observações previamente relatadas por Latorraca et al. (1998).⁶⁹ Ao desmame, a depleção do estado nutricional foi confirmada pela hipoalbuminemia, uma característica comumente encontrada em animais experimentais e em crianças e desnutridos.^{127,128} Também foram observados efeitos da dieta hipoprotéica durante períodos da vida fetal e da lactação sobre a composição corporal. A dieta hipoprotéica diminuiu a massa de gordura total e a proporção de gordura corporal enquanto aumentou a porcentagem de massa magra devido ao aumento da porcentagem de cinza corporal. Estes resultados contrastam com os observados em ratos submetidos à restrição protéica, durante a fase de crescimento, após o desmame, que mostraram aumento na porcentagem de gordura corporal.^{11,88} Assim, ao menos nesta fase de desenvolvimento, a proporção de gordura corporal foi mais afetada pela dieta hipoprotéica do que as proporções de proteínas e de cinzas.

Ratos submetidos à restrição protéica e calórica durante a vida intra-uterina apresentam peso corporal similar ou maior que os controles, após recuperação nutricional.^{13,15,129} Neste e em estudos anteriores, a recuperação nutricional após o desmame não corrigiu o déficit de peso corporal, independente da qualidade da proteína da dieta.^{69,130} Em contraste, quando ratos são submetidos à restrição alimentar ou protéica somente durante a vida intrauterina o peso corporal na vida adulta é maior ou similar do que naqueles controles.^{13,131} A partir destas observações, sugere-se que o período pré-natal e a restrição calórica são mais críticos para o desenvolvimento do que o período pós-natal e a restrição protéica.

Ambos os grupos recuperados exibiram maior ingestão energética, mas proporção de gordura os depósitos e da carcaça menor do que os controles, devido ao gasto energético relativo aumentado. Aparentemente, animais em recuperação, após uma desnutrição severa, aumentam a ingestão energética para satisfazer as demandas para manutenção bem como para o crescimento do tecido magro juntamente com uma quantidade apropriada de gordura, de modo que o excesso é depositado no corpo.¹³² Contudo, quando a depleção nutricional é imposta durante fases críticas de desenvolvimento, o tamanho dos depósitos de gordura é reduzido e se mantém assim, mesmo após um longo tempo com uma dieta normal. Assim como o peso corporal, a redução do tamanho dos depósitos de gordura é muito maior em animais submetidos à restrição protéica durante a lactação, sugerindo que o tamanho destes é mantido como proporção ao peso corporal e que a programação do tamanho dos adipócitos ocorre durante a vida fetal e no início da pós-natal.¹³⁰

Independente do estado nutricional progresso, a DFISMI não alterou a proporção de gordura da carcaça, mas foi mais efetiva que a dieta à base de caseína em reduzir a proporção dos depósitos de gordura, possivelmente devido ao maior gasto energético, uma vez que os animais alimentados com dietas à base de caseína ou de soja ingerido, proporcionalmente, a mesma quantidade de dieta. O aumento do gasto energético observado nos animais alimentados com dieta à base de soja tem sido atribuído à elevação das concentrações séricas de tiroxina, que altera a taxa metabólica basal, e ao aumento da atividade do tecido adiposo marrom.^{22,99,103} Outros efeitos da soja sobre a gordura corporal e redução dos depósitos de gordura são atribuídos à diminuição da lipogênese e ao aumento da lipólise nos adipócitos.^{97,107,108} Curiosamente, entre os ratos recuperados, o tipo de dieta não interferiu no gasto energético.

As concentrações séricas de leptina são proporcionais à massa de gordura total, mas em ratos desmamados submetidos à dieta restrita em proteína, e em ratos adultos recuperados de restrição protéica precoce nenhuma diferença foi observada.^{84,133,134} Por outro lado, tem sido proposto que, pelo menos um componente da farinha integral de soja (isoflavonas) reduz as concentrações séricas de leptina.²⁶ Neste estudo, a concentração de leptina sérica basal não diferiu entre os grupos, apesar dos ratos submetidos à desnutrição e recuperados mostrarem conteúdo de gordura dos depósitos e da carcaça menores do que os ratos controles. Entretanto, a razão entre a concentração sérica de leptina pela gordura corporal total foi maior nos ratos recuperados do que nos ratos controles. Entre os ratos recuperados, esta razão foi desproporcionalmente elevada no grupo RS. Isto sugere que ratos submetidos à restrição protéica em fases críticas de desenvolvimento e recuperados com DFISMI, têm adipócitos mais eficientes em secretar leptina e/ou resistência ao hormônio.

É interessante ressaltar que, após a recuperação nutricional a proporção de proteína da carcaça permaneceu similar a dos ratos controles, em desacordo com diversos estudos que sugerem que a desnutrição imposta durante a vida fetal ou na vida pós-natal resulta em uma redução da massa muscular, conseqüência esta que não é revertida pela nutrição posterior.¹³⁵⁻¹³⁷ Entretanto, ratos recuperados com dieta à base de farinha integral de soja exibiram ganho de energia como proteína e percentagem de proteína da carcaça menores que aqueles recuperados com caseína. Estes resultados não parecem ser devido à deficiência de aminoácidos tais como metionina e cistina, porque, assim como a soja, a caseína também é deficiente nestes aminoácidos e porque ambas as dietas foram suplementadas com cistina.¹²¹

A farinha de soja utilizada neste estudo sofreu um tratamento térmico para inibir fatores antinutricionais e aumentar a biodisponibilidade da proteína. Este procedimento parece ter sido insuficiente visto que as taxas de eficiência protéica e energética dos animais recuperados com DFISMI foram menores do que daqueles recuperados com dieta à base de caseína. Contudo, como os ratos mantidos com DFISMI ou dieta à base de caseína mostraram concentrações séricas de albumina e de proteínas totais similares aos dos ratos controles e maiores do que as dos ratos desnutridos, torna-se claro que a DFISMI foi eficiente para recuperar o estado nutricional dos animais.

Os grupos controles e recuperados com caseína exibiram proporção similar de cinza da carcaça. A depleção nutricional, seguida pela completa reabilitação não altera a proporção de massa óssea.¹³⁸ A proporção de cinza da carcaça maior no grupo RS em relação ao grupo RC era esperada, visto que os produtos à base de soja são importantes fontes de vários minerais e preservam a densidade mineral óssea.^{139,140}

Assim, o modelo experimental não produziu obesidade e a recuperação nutricional com DFISMI não alterou o balanço energético, mas diminuiu o peso corporal às custas da proteína na carcaça, possivelmente devido à presença de fatores antinutricionais, que prejudicam a digestibilidade e a biodisponibilidade da proteína.

IX – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. International Obesity Task Force [Online]. <http://www.iotf.org> [accessed february 2006].
2. Maire B, Delpeuch F, Cornu A, Tchibindat F, Simondon F, Massamba JP, *et al.* Urbanization and nutritional transition in sub-saharan Africa: exemplified by Congo and Senegal. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1992; 40 (4): 252-8.
3. Webber J. Energy balance in obesity. *Proc Nutr Soc* 2003 May; 62(2): 539-43.
4. Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in útero and early infancy. *N Engl J Med* 1976 Aug; 295(7): 349-53.
5. Barker DJ, Hales CN, Fall CHD, Osmond C, Phipps K, Clark PMS. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 1993 January; 36(1): 62-7.
6. Sahu A. Minireview: A hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin. *Endocrinology* 2004 Jun; 145(6): 2613-20.
7. Fruhbeck G, Jebb SA, Prentice AM. Leptin: physiology and pathophysiology. *Clin Physiol* 1998 Sep; 18(5): 399-419.
8. Fruhbeck G. A heliocentric view of leptin. *Proc Nutr Soc* 2001; 60: 301-18.

9. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998 Oct 22; 395(6704): 763-70.
10. Singhal A, Farooqi IS, O'Rahilly S, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Early nutrition and leptin concentrations in later life. *Am J Clin Nutr* 2002 Jun; 75(6): 993-9.
11. Du F, Higginbotham DA, White BD. Food intake, energy balance and serum leptin, concentrations in rats fed low-protein diets. *J Nutr* 2000 Mar; 130(3): 514-21.
12. Jones AP, Friedman MI. Obesity and adipocyte abnormalities in offspring of rats undernourished during pregnancy. *Science* 1982 Mar 19; 215(4539): 1518-9.
13. Jones AP, Simson EL, Friedman MI. Gestational undernutrition and the development of obesity in rats. *J Nutr* 1984 Aug; 114(8): 1484-92.
14. Jones AP, Assimon SA, Friedman MI. The effect of diet on food intake and adiposity in rats made obese by gestational undernutrition. *Physiol Behav* 1986; 37(3): 381-6.
15. Anguita RM, Sigulem DM, Sawaya AL. Intrauterine food restriction is associated with obesity in young rats. *J Nutr* 1993 Aug; 123(8): 1421-8.
16. Vicente LL, de Moura EG, Lisboa PC, Monte Alto Costa A, Amadeu T, Mandarim-de-Lacerda CA, *et al.* Malnutrition during lactation in rats is associated with higher

expression of leptin receptor in the pituitary of adult offspring. *Nutrition* 2004 Oct; 20(10): 924-8.

17. Jenkins DJ, Wolever TM, Spiller G, Buckley G, Lam Y, Jenkins AL, *et al.* Hypocholesterolemic effect of vegetable protein in a hypocaloric diet. *Atherosclerosis* 1989 Aug; 78(2-3): 99-107.

18. Baba N, Radwan H, Itallie TV. Effect of casein versus soy protein diets on body composition and serum lipid levels in adult rats. *Nutr Res* 1992; 12:279.

19. Shinjo S, Asato L, Arakaki S, Kina T, Kohrin T, Mori M, *et al.* Comparative effect of casein and soybean protein isolate on body fat accumulation in adult rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1992 Jun; 38(3): 247-53.

20. Lang V, Bellisle F, Oppert JM, Craplet C, Bornet FR, Slama G, *et al.* Satiating effect of proteins in healthy subjects: a comparison of egg albumin, casein, gelatin, soy protein, pea protein, and wheat gluten. *Am J Clin Nutr* 1998 Jun; 67(6): 1197-204.

21. Lang V, Bellisle F, Alamowitch C, Craplet C, Bornet FR, Slama G, *et al.* Varying the protein source in mixed meal modifies glucose, insulin and glucagon kinetics in healthy men, has weak effects on subjective satiety and fails to affect food intake. *Eur J Clin Nutr* 1999 Dec; 53(12): 959-65.

22. Saito M. Effect of soy peptides on energy metabolism in obese animals. *Nutr Sci Soy Protein* 1991; 12: 91-4.
23. Lephart ED, Porter JP, Lund TD, Bu L, Setchell KD, Ramoz G, Crowley WR. Dietary isoflavones alter regulatory behaviors, metabolic hormones and neuroendocrine function in Long-Evans male rats. *Nutr Metab (Lond)* 2004 Dec 23; 1(1): 16.
24. Horvath TL, Warden CH, Hajos M, Lombardi A, Goglia F, Diano S. Brain uncoupling protein 2: uncoupled neuronal mitochondria predict thermal synapses in homeostatic centers. *J Neurosci*. 1999 Dec 1; 19(23): 10417-27.
25. Argyropoulos G, Harper ME. Uncoupling proteins and thermoregulation. *J Appl Physiol*. 2002 May; 92(5): 2187-98.
26. Lephart ED, Setchell KD, Handa RJ, Lund TD. Behavioral effects of endocrine-disrupting substances: phytoestrogens. *ILAR J*. 2004; 45(4):443-54.
27. Szkudelska K, Nogowski L, Szkudelski T. Genistein affects lipogenesis and lipolysis in isolated rat adipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000 Dec 31; 75(4-5): 265-71.
28. Szkudelska K, Szkudelski T, Nogowski L. Daidzein, coumestrol and zearalenone affect lipogenesis and lipolysis in rat adipocytes. *Phytomedicine* 2002 May; 9(4): 338-45.

29. York DA. Lessons from animal models of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996 Dec;25(4):781-800.
30. Patel AC, Nunez NP, Perkins SN, Barrett JC, Hursting SD. Effects of energy balance on cancer in genetically altered mice. *J Nutr* 2004 Dec; 134(12): 3394-98.
31. Kennedy GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1953 Jan 15; 140(901): 578-96.
32. Coleman DL. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia*. 1978 Mar; 14(3): 141-8.
33. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994 Dec 1; 372: 425-32.
34. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, *et al*. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995 Dec 29; 83(7): 1263-71.
35. Himms-Hagen J. Physiological roles of the leptin endocrine system: differences between mice and humans. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1999 Dec; 36(6): 575-655.

36. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 2000; 62: 413-37.
37. Holness MJ, Munns MJ, Sugden MC. Current concepts concerning the role of leptin in reproductive function. *Mol Cell Endocrinol* 1999 Nov 25; 157(1-2): 11-20.
38. Aoki N, Kawamura M, Matsuda T. Lactation-dependent down regulation of leptin production in mouse mammary gland. *Biochim Biophys Acta* 1999 Apr 19; 1427(2): 298-306.
39. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, ET AL. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998 Aug 20; 394(6695): 790-3.
40. Wang J, Liu R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature* 1998 Jun 18; 393(6686): 684-8.
41. Wiesner G, Vaz M, Collier G, Seals D, Kaye D, Jennings G, *et al.* Leptin is released from the human brain: influence of adiposity and gender. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 Jul; 84(7): 2270-4.
42. Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Magosin S, *et al.* Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest.* 1996 Mar 1; 97(5):1344-7.

43. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*. 1997 Jun 26; 387(6636):903-8.
44. Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998 Mar; 18(3): 213-5.
45. Ozata M, Ozdemir IC, Licinio J. Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Oct; 84(10):3686-95. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab* 2000 Jan;85(1):416.
46. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996 Feb 1; 334(5): 292-5.
47. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995 Nov; 1(11): 1155-61.
48. Havel PJ, Kasim-Karakas S, Dubuc GR, Mueller W, Phinney SD. Gender differences in plasma leptin concentrations. *Nat Med* 1996 Sep; 2(9): 949-50.

49. Hickey MS, Israel RG, Gardiner SN, Considine RV, McCammon MR, Tyndall GL, *et al.* Gender differences in serum leptin levels in humans. *Biochem Mol Med.* 1996 Oct; 59(1): 1-6.
50. Havel PJ. Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001 Dec; 226(11): 963-77.
51. Demerath EW, Towne B, Wisemandle W, Blangero J, Chumlea WC, Siervogel RM. Serum leptin concentration, body composition, and gonadal hormones during puberty. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999 Jul; 23(7): 678-85.
52. Wabitsch M, Blum WF, Muche R, Braun M, Hube F, Rascher W, *et al.* Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. *J Clin Invest* 1997 Aug 15; 100(4): 808-13.
53. Casabiell X, Pineiro V, Peino R, Lage M, Camina J, Gallego R, *et al.* Gender differences in both spontaneous and stimulated leptin secretion by human omental adipose tissue in vitro: dexamethasone and estradiol stimulate leptin release in women, but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 Jun; 83(6): 2149-55.
54. Keim NL, Stern JS, Havel PJ. Relation between circulating leptin concentrations and appetite during a prolonged, moderate energy deficit in women. *Am J Clin Nutr* 1998 Oct; 68(4): 794-801.

55. Dubuc GR, Phinney SD, Stern JS, Havel PJ. Changes of serum leptin and endocrine and metabolic parameters after 7 days of energy restriction in men and women. *Metabolism* 1998 Apr; 47(4): 429-34.
56. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 Sep; 81(9): 3419-23.
57. Weigle DS, Duell PB, Connor WE, Steiner RA, Soules MR, Kuijper JL. Effect of fasting, refeeding, and dietary fat restriction on plasma leptin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 Feb; 82(2): 561-5.
58. Kolaczynski JW, Ohannesian JP, Considine RV, Marco CC, Caro JF. Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 Nov; 81(11): 4162-5.
59. Jenkins AB, Markovic TP, Flourey A, Campbell LV. Carbohydrate intake and short-term regulation of leptin in humans. *Diabetologia* 1997; 40: 348-51.
60. Ahren B, Manson S, Generic RL, Havel PJ. Regulation of plasma leptin in mice: influence of age, high-fat diet, and fasting. *American Journal of Physiology* 1997; 273: 113-120.

61. Banks WA, Kerstin AJ, Huang W, Japan JB, Maness LM. Leptin enters the brain by a storable system independent of insulin. *Peptides* 1996; 17(2): 305-11.
62. Houseknecht KL, Portocarrero CP. Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Domest Anim Endocrinol* 1998 Nov; 15(6): 457-75.
63. Niswender KD, Schwartz MW. Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities. *Front Neuroendocrinol* 2003 Jan; 24(1): 1-10.
64. Ozanne SE, Nave BT, Wang CL, Shepherd PR, Prins J, Smith GD. Poor fetal nutrition causes long-term changes in expression of insulin signaling components in adipocytes. *Am J Physiol* 1997 Jul; 273: 46-51.
65. Ozanne SE, Wang CL, Coleman N, Smith GD. Altered muscle insulin sensitivity in the male offspring of protein-malnourished rats. *Am J Physiol* 1996 Dec; 271: 1128-34.
66. Ozanne SE, Smith GD, Tikerpae J, Hales CN. Altered regulation of hepatic glucose output in the male offspring of protein-malnourished rat dams. *Am J Physiol* 1996 Apr; 270: 559-64.
67. Sener A, Reusens B, Remacle C, Hoet JJ, Malaisse WJ. Nutrient metabolism in pancreatic islets from protein malnourished rats. *Biochem Mol Med* 1996 Oct; 59(1): 62-7.

68. Snoeck A, Remacle C, Reusens B, Hoet JJ. Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. *Biol Neonate* 1990; 57(2): 107-18.
69. Latorraca MQ, Carneiro EM, Boschero AC, Mello MAR. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. *Br J Nutr* 1998; 80: 291-7.
70. Igel M, Taylor BA, Phillips SJ, Becker W, Herberg L, Joost HG. Hyperleptinemia and leptin receptor variant Asp600Asn in the obese, hyperinsulinemic KK mouse strain. *J Mol Endocrinol* 1998 Dec; 21(3): 337-45.
71. Oscai LB, McGarr JA. Evidence that the amount of food consumed in early life fixes appetite in the rat. *Am J Physiol* 1978 Sep; 235(3): R141-4.
72. Plagemann A, Heidrich I, Gotz F, Rohde W, Dorner G. Obesity and enhanced diabetes and cardiovascular risk in adult rats due to early postnatal overfeeding. *Exp Clin Endocrinol* 1992; 99(3): 154-8.
73. Plagemann A, Harder T, Janert U, Rake A, Rittel F, Rohde W, *et al.* Malformations of hypothalamic nuclei in hyperinsulinemic offspring of rats with gestational diabetes. *Dev Neurosci* 1999; 21(1): 58-67.

74. Plagemann A, Harder T, Rake A, Melchior K, Rohde W, Dorner G. Increased number of galanin-neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus of neonatally overfed weanling rats. *Brain Res* 1999 Feb 6; 818(1): 160-3.
75. Davidowa H, Plagemann A. Decreased inhibition by leptin of hypothalamic arcuate neurons in neonatally overfed young rats. *Neuroreport* 2000 Aug 21; 11(12): 2795-8.
76. Davidowa H, Plagemann A. Inhibition by insulin of hypothalamic VMN neurons in rats overweight due to postnatal overfeeding. *Neuroreport* 2001 Oct 29; 12(15): 3201-4.
77. Heidel E, Plagemann A, Davidowa H. Increased response to NPY of hypothalamic VMN neurons in postnatally overfed juvenile rats. *Neuroreport* 1999 Jun 23; 10(9): 1827-31.
78. Davidowa H, Li Y, Plagemann A. Differential response to NPY of PVH and dopamine-responsive VMH neurons in overweight rats. *Neuroreport* 2002 Aug 27; 13(12): 1523-7.
79. Davidowa H, Li Y, Plagemann A. Altered responses to orexigenic (AGRP, MCH) and anorexigenic (alpha-MSH, CART) neuropeptides of paraventricular hypothalamic neurons in early postnatally overfed rats. *Eur J Neurosci* 2003 Aug; 18(3): 613-21.

80. Li Y, Plagemann A, Davidowa H. Increased inhibition by agouti-related peptide of ventromedial hypothalamic neurons in rats overweight due to early postnatal overfeeding. *Neurosci Lett* 2002 Sep 13; 330(1): 33-6.
81. Stephens DN. Growth and the development of dietary obesity in adulthood of rats which have been undernourished during development. *Br J Nutr* 1980 Nov; 44(3): 215-27.
82. Vickers MH, Breier BH, Cutfield WS, Hofman PL, Gluckman PD. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000 July; 279(1) 83-7.
83. McMillen IC, Adam CL, Muhlhausler BS. Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. *J Physiol* 2005 May 15; 565(1): 9-17.
84. Plagemann A, Waas T, Harder T, Rittel F, Ziska T, Rohde W. Hypothalamic neuropeptide Y levels in weaning offspring of low-protein malnourished mother rats. *Neuropeptides* 2000 Feb; 34(1): 1-6.
85. White BD, Porter MH, Martin RJ. Effects of age on the feeding response to moderately low dietary protein in rats. *Physiol Behav* 2000 Mar; 68(5): 673-81.
86. Webster AJ. Energy partitioning, tissue growth and appetite control. *Proc Nutr Soc.* 1993 Feb; 52(1):69-76.

87. White BD, He B, Dean RG, Martin RJ. Low protein diets increase neuropeptide Y gene expression in the basomedial hypothalamus of rats. *J Nutr* 1994 Aug; 124(8): 1152-60.

88. White BD, Dean RG, Martin RJ. Na association between low levels of dietary protein, elevated NPY gene expression in the basomedial hypothalamus and increased food intake. *Nutr Neurosci* 1998; 1:173.

89. Specter SE, Hamilton JS, Stern JS, Horwitz BA. Chronic protein restriction does not alter energetic efficiency or brown adipose tissue thermogenic capacity in genetically obese (fa/fa) Zucker rats. *J Nutr* 1995 Aug; 125(8): 2183-93.

90. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995 Aug 3; 333(5): 276-82.

91. Moughan PJ. Amino acid availability: aspects of chemical analysis and bioassay methodology. *Nutr Res* 2003; 127 - 141.

92. Miura EMY, Binotti MAR, Camargo DS, Mizubutti IY, Ida EL. Avaliação biológica da soja com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor kunitz. *Arquivos Latinoamericanos de Nutrición* 2001; 51: 195-198.

93. Monteiro MRP, Moreira MA, Costa NMB, Oliveira MG, Pires CV. Avaliação da digestibilidade protéica de genótipos de soja com ausência e presença do inibidor de tripsina kunitz e lipoxigenases. *Brazilian Journal of Food Technology* 2003; 6: 99-107.
94. Pelletier S, Kundrat S, Hasler CM. Effects of an educational program on intent to consume functional foods. *J Am Diet Assoc* 2002 Sep; 102(9): 1297-300.
95. Araújo W, Araújo R. Alimentos funcionais. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* 1999; 14; 237-46.
96. Anderson RL, Wolf WJ. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J Nutr* 1995 Mar; 125: 581-88.
97. Aoyama T, Fukui K, Takamatsu K, Hashimoto Y, Yamamoto T. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK) *Nutrition* 2000 May; 16(5): 349-54.
98. Bosello O, Cominacini L, Zocca I, Garbin U, Compri R, Davoli A, *et al.* Short- and long-term effects of hypocaloric diets containing proteins of different sources on plasma lipids and apoproteins of obese subjects. *Ann Nutr Metab.* 1988; 32(4): 206-14.
99. Bhathena SJ, Velasquez MT. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr* 2002 Dec; 76(6): 1191-201.

100. Goodman-Gruen D, Kritz-Silverstein D. Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *J Nutr* 2001 Apr; 131(4): 1202-6.

101. Kawano-Takahashi Y, Ohminami H, Okuda H, Kitagawa I, Yoshikawa M, Arichi S, Hayashi T. Effect of soya saponins on gold thioglucose-induced obesity in mice. *Int J Obes* 1986; 10: 293-302.

102. Iritani N, Fukuda H, Tada K. Effect of soybean protein on lipid metabolism in genetically obese rat. *Rep Soy Protein Res Commun* 1995; 16:14.

103. Barth CA, Pfeuffer M. Dietary protein and atherogenesis. *Klin Wochenschr* 1988 Feb 15; 66(4): 135-43.

104. Forsythe WA. Comparison of dietary casein or soy protein effects on plasma lipids and hormone concentrations in the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Nutr* 1986 Jul; 116(7): 1165-71.

105. Hara E, Shimazu T. Effect of soy protein isolate on sucrose – induced obesity in pot weanling rats. *Nutr Sci Soy Protein* 1992; 13-46.

106. Szkudelski T, Nogowski L, Pruszynska-Oszmalek E, Kaczmarek P, Szkudelska K. Genistein restricts leptin secretion from rat adipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005 Aug; 96(3-4): 301-7.

107. Persaud SJ, Harris TE, Burns CJ, Jones PM. Tyrosine Kinases play a permissive role in glucose-induced insulin secretion from adult rat islets. *J Molecular Endocrinology* 1999; 22: 19-28.

108. Abler A, Smith JA, Randazzo PA, Rothenberg PL, Jarett L. Genistein differentially inhibits postreceptor effects of insulin in rat adipocytes without inhibiting the insulin receptor kinase. *J Biol Chem* 1992 Feb 25; 267(6): 3946-51.

109. Donahoo WT, Jensen DR, Yost TJ, Eckel RH. Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulating leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 Dec; 82(12): 4139-43.

110. Stumvoll M, Fritsche A, Tschritter O, Lehmann R, Wahl HG, Renn W, Haring H. Leptin levels in humans are acutely suppressed by isoproterenol despite acipimox-induced inhibition of lipolysis, but not by free fatty acids. *Metabolism* 2000 Mar; 49(3): 335-9.

111. Szkudelski T, Nowicka E, Szkudelska K. Leptin secretion and protein kinase A activity. *Physiol Res.* 2005;54(1):79-85.

112. Gettys TW, Harkness PJ, Watson PM. The beta 3-adrenergic receptor inhibits insulin-stimulated leptin secretion from isolated rat adipocytes. *Endocrinology* 1996 Sep; 137(9): 4054-7.

113. Cammisotto PG, Bukowiecki LJ. Mechanisms of leptin secretion from white adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002 Jul; 283(1): 244-50.

114. Londos C, Brasaemle DL, Schultz CJ, Adler-Wailes DC, Levin DM, Kimmel AR, et al. On the control of lipolysis in adipocytes. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 Nov 18;892:155-68.

115. Kuppusamy UR, Das NP. Effects of flavonoids on cyclic AMP phosphodiesterase and lipid mobilization in rat adipocytes. *Biochem Pharmacol.* 1992 Oct 6; 44(7): 1307-15.

116. Kandulska K, Nogowski L, Szkudelski T. Effect of some phytoestrogens on metabolism of rat adipocytes. *Reprod Nutr Dev.* 1999 Jul-Aug;39(4):497-501.

117. Allison DB, Gadbury G, Schwartz LG, Murugesan R, Kraker JL, Heshka S, Fontaine KR, Heymsfield SB. A novel soy-based meal replacement formula for weight loss among obese individuals: a randomized controlled clinical trial. *Eur J Clin Nutr* 2003 Apr; 57(4): 514-22.

118. Blundell JE, Burley VJ. Satiating, satiety and the action of fibre on food intake. *Int J Obes* 1987;11 Suppl 1:9-25.

119. Vahouny GV, Satchithanandam S, Chen I, Tepper SA, Kritchevsky D, Lightfoot FG, Cassidy MM. Dietary fiber and intestinal adaptation: effects on lipid absorption and lymphatic transport in the rat. *Am J Clin Nutr* 1988 Feb;47(2):201-6.

120. Manual para Técnicos em Laboratórios. Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), 2a ed. 1996.

121. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993 Nov; 123(11): 1939-51.

122. DINAL 4.3260.0003.01-2. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos/DINAL da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária.

123. Wolfson WQ, Chon C, Calvary F, Ichiba F. Studies in serum proteins. 5. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, and gamma globulin in 1.0ml of serum. *Am J Clin Pathol* 1948; 18: 723.

124. Doumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and measurements of serum albumin with bronocresol green. *Clin Chim Acta* 1971; 31: 87.

125. Trinder P. Determination of blood glucose using na oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J Clin Path* 1969; 22: 158.

126. Sokal RR, Rohlf FJ. Assumptions of analysis of variance. In: Biometry: The principles and practice of statistics in biological research (Sokal RR & Rohlf FJ, eds.), pp. 392-450. W H Freeman and Company, New York.

127. Milner RDG. Metabolic and hormonal responses to glucose and glucagon in patients with infantile malnutrition. *Pediatr Res* 1971; 5: 33-9.

128. Reis MA, Carneiro EM, Mello MA, Boschero AC, Saad MJ, Velloso LA. Glucose-induced insulin secretion is impaired and insulin-induced phosphorylation of the insulin receptor and insulin receptor substrate-1 are increased in protein-deficient rats. *J Nutr* 1997 Mar; 127(3): 403-10.

129. Holness MJ. Impact of early growth retardation on glucoregulatory control and insulin action in mature rats. *Am J Physiol* 1996 Jun; 270(6): 946-54.

130. Shepherd PR, Crowther NJ, Desai M, Hales CN, Ozanne SE. Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. *Br J Nutr* 1997 Jul; 78(1): 121-9.

131. Desai M, Crowther NJ, Lucas A, Hales CN. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. *Br J Nutr*. 1996 Oct;76(4):591-603.

132. Harris PM, Widdowson EM. Deposition of fat in the body of the rat during rehabilitation after early undernutrition. *Br J Nutr* 1978 Jan; 39(1): 201-11.

133. Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Lollmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med* 1995 Dec; 1(12): 1311-4.

134. Holness MJ. Enhanced glucose uptake into adipose tissue induced by early growth restriction augments excursions in plasma leptin response evoked by changes in insulin status. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001 Dec; 25(12): 1775-81.

135. Winick M, Noble A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J Nutr* 1966 Jul; 89(3): 300-6.

136. Widdowson EM. Intra-uterine growth retardation in the pig. I. Organ size and cellular development at birth and after growth to maturity. *Biol Neonate* 1971; 19(4): 329-40.

137. Fleagle JG, Samonds KW, Hegsted DM. Physical growth of cebus monkeys, *Cebus albifrons*, during protein or calorie deficiency. *Am J Clin Nutr* 1975 Mar; 28(3): 246-53.

138. Elsley FWH, McDonald I, Fowler VR. *Anim Prod* 1964; 6: 141.

139. Soares LL, Lucas AM, Boaventura GT. Can organic and transgenic soy be used as a substitute for animal protein by rats? *Braz J Med Biol Res* 2005 Apr; 38(4): 583-6.

140. The role of soy in preventing and treating chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 1998;
68: 1329.

MANUSCRITO

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)