

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

FABIANA PAVAN VIANA

**“ INFLUÊNCIA DE UM NOVO PRODUTO FERMENTADO DE SOJA  
SOBRE O METABOLISMO LIPÍDICO TECIDUAL EM RATOS  
SUBMETIDOS A UMA DIETA ENRIQUECIDA COM COLESTEROL ”**

São Carlos

2005

**FABIANA PAVAN VIANA**

**“ INFLUÊNCIA DE UM NOVO PRODUTO FERMENTADO DE SOJA SOBRE O  
METABOLISMO LIPÍDICO TECIDUAL EM RATOS SUBMETIDOS A UMA DIETA  
ENRIQUECIDA COM COLESTEROL ”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana R. Dâmaso

São Carlos

2005

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

V614in

Viana, Fabiana Pavan.

Influência de um novo produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico tecidual em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol / Fabiana Pavan Viana. -- São Carlos : UFSCar, 2005.

128 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2005.

1. Lipídios - metabolismo. 2. Produto fermentado de soja. 3. Enterococcus faecium. 4. Lipólise. 5. Lipogênese. I. Título.

CDD: 612.397 (20<sup>a</sup>)

*Dedico o fruto deste trabalho ao meu querido esposo Paulo e aos meus filhinhos: Davi e Lucas, que são minha fonte de inspiração e alegria de vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

À DEUS, por ter abençoado e possibilitado a realização desta tese.

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Ana R. Dâmaso, pela dedicação, carinho, incentivo, pelos conhecimentos transmitidos e confiança depositada, meu afeto e eterna gratidão.

À minha família “maior”, isto é meus pais, meu irmão, sua esposa e meus sobrinhos, minha querida sogra Corália e meu sogro Idelson pelas orações, apoio e incentivo.

DEFMH - UFSCar: Neuli, Sandra, Nádia, Ricardo, Marla, João Paulo, Marcela e Cristiane, pela amizade, companherismo e ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

À Ivone, técnica do laboratório do DEFMH – UFSCar.

Ao Prof<sup>º</sup> Dr<sup>º</sup> Elizeu Antonio Rossi do Departamento de Alimentos e Nutrição e a Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Iracilda Zeppone Carlos do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual Paulista de Araraquara- UNESP.

À Roseli Ap. Pinto, técnica do laboratório da Unidade de Desenvolvimento e Produção de Derivados de Soja –UNISOJA/FCF/UNESP.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Oller do Nascimento e à Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lila Missae Oyama, do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina – UNIFESP, por manter sempre as portas abertas para a realização desta pesquisa.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Keico Okino Nonaka do Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Ciências Fisiológicas - UFSCar.

À Selma, secretária da PPG-CF, pela ajuda e apoio.

À todos o meu muito obrigado.

*Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito [...] não somos o que devíamos ser, mas somos o que iremos ser. Mas graças à Deus, não somos o que éramos.*

*Martim Luther King .*

## RESUMO

Em relação aos vários tipos de dietas utilizadas, a soja tem sido pesquisada como um possível recurso coadjuvante no tratamento de diversas patologias. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi investigar a ação de um novo produto fermentado de soja acrescido do *Enterococcus Faecium* e do *Lactobacillus Jugurti* sobre o metabolismo lipídico em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol. Para isto, ratos machos da linhagem Wistar, com idade aproximada de 3 meses, pesando entre 220-240 gramas, foram divididos em quatro grupos experimentais, tratados com diferentes tipos de dieta: Dieta padrão - C; Dieta padrão associada ao produto fermentado - CPF, (1 ml/dia/rato); Dieta Hipercolesterolêmica associada ao Produto Fermentado - HPF; Dieta Hipercolesterolêmica - H. Os ratos foram mantidos sedentários durante todo o período experimental. Após 08 semanas de tratamento foram sacrificados, sendo o plasma, os tecidos adiposos brancos retroperitoneal - RET e epididimal - EPI, o tecido adiposo marrom interescapular - TAM, músculo gastrocnêmio - GAST e o fígado - FIG separados, pesados e estocados em freezer a - 20° C para as análises bioquímicas e morfológicas. Os resultados demonstraram que o produto fermentado de soja diminuiu o ganho de peso corporal em ratos submetidos tanto à dieta com alto teor de colesterol, assim como a dieta padrão. A maioria das evidências demonstraram que o produto fermentado de soja diminuiu a síntese lipídica, área e o diâmetro dos adipócitos, aumentou a lipólise, diminuiu o conteúdo de gordura (em algumas situações) e o peso dos tecidos adiposos RET e EPI, principalmente quando os animais foram submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica. Além disso, foi observado que este mesmo produto reduziu o conteúdo de gordura, a síntese lipídica e peso do FIG, mesmo quando os animais foram submetidos a uma dieta com alto teor de colesterol. Outro efeito observado do produto fermentado soja foi à diminuição do conteúdo de gordura no GAST. Ademais o produto quando administrado no grupo hipercolesterolêmico aumentou o conteúdo de gordura e reduziu a síntese lipídica no TAM em relação ao grupo H. Pode-se sugerir que a administração do produto fermentado de soja pode ser um possível coadjuvante na redução da adiposidade, na prevenção da esteatose hepática e no controle de peso corporal.

Palavras Chave: Lipólise, lipogênese, captação dos lipídios da dieta, obesidade, produto fermentado de soja, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus jugurti*.



## ABSTRACT

In relation to many types of diets, soybean has been researched as a possible co-helping resource in the treatment of diverse pathologies. Therefore, the objective of this current work was to investigate the manifestation of a new soybean fermented product with added *Enterococcus Faecium* and *Lactobacillus Jugurti* on the lipid metabolism of male Wistar rats, aged approximately 3 months and weighing between 220-240 grams. They were divided into four experimental groups and treated with different types of diets: Standard diet – C; Standard diet associated to the fermented product – CPF (1ml/day/rat); Hypercholesterolemic diet associated to the Fermented Product – HPF; Hypercholesterolemic diet – H. The rats were maintained sedentary throughout the entire experimental period. After 08 weeks of treatment they were slaughtered, separating and weighing the plasma, the white retroperitoneal adipose tissues – RET and epididimal – EPI, the brown interscapular adipose tissue – TAM, gastrocnemius muscle – GAST and liver – FIG. These were stored in a freezer at -20°C for biochemical and morphological analysis. The results demonstrated that the soybean fermented product diminished body weight gain in rats submitted to the high rate cholesterol diet as well as the standard diet. Most of the evidence proved that the soybean fermented product diminished the lipid synthesis, adipose areas and diameter, increased lipolysis, diminished the fat content (in some situations) and the RET and EPI adipose tissues, mainly when the animals were submitted to a hypercholesterolemic diet. Furthermore, it was observed that this product reduced the fat content, lipid synthesis and FIG weight, even when the animals were submitted to a high rate cholesterol diet. Another effect that was observed of the soybean fermented product was the diminishing of the fat content in GAST. Moreover, when the product was administered in the hypercholesterolemic group, it increased the fat content and reduced the lipid synthesis in TAM in relation to the H group. It can be suggested that administering the soybean fermented product can be a possible co-helper in reducing adiposity, in preventing hepatic steatosis and in controlling body weight.

**Key words:** Lipolytic, lipogenesis, collecting lipids of diet, obesity, soybean, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus jugurti*.

## Lista de Abreviações

|                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| μl                                    | Micro litro   |
| μM                                    | Micro mol   |
| A                                     | Área de adipócitos  |
| ASP                                   | Proteína estimulante da acilação  |
| C                                     | Grupo Controle  |
| CPF                                   | Grupo controle associado ao produto fermentado                                      |
| D                                     | Diâmetro dos adipócitos   |
| EPI                                   | Tecido adiposo branco epididimal  |
| FFA                                   | Ácido graxo livre   |
| FIG                                   | Fígado  |
| G                                     | Gramas  |
| GAL                                   | Galanina  |
| GAST                                  | Músculo gastrocnêmio  |
| GH                                    | Hormônio de crescimento   |
| GK                                    | Gliceroquinase  |
| H                                     | Grupo que recebeu a dieta enriquecida de colesterol                                 |
| HDL                                   | Lipoproteína de alta densidade  |
| HPF                                   | Grupo que recebeu a dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado |
| HSL                                   | Lípase hormônio sensível  |
| LDL                                   | Lipoproteína de baixa densidade   |
| MCH                                   | Hormônio melanina   |
| MCI DE <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O. | Curie de água triciada  |
| Mg                                    | Miligramas  |
| NPY                                   | Neuropetídeo Y  |
| NT                                    | Neurotensina  |
| PKA                                   | Proteína quinase A  |
| POMC                                  | Proopiomelanocortina  |
| PPAR <sub>γ</sub>                     | Receptor de hormônio nuclear  |
| RET                                   | Tecido adiposo branco retroperitoneal   |
| SREBP-1                               | Elemento regulador do esterol ligado a proteína-1 do fator de transcrição           |
| TAM                                   | Tecido adiposo marrom interescapular  |

## Lista de Quadros

- Quadro 1 - Locais de ação dos ácidos graxos de cadeia curta e possíveis conseqüências (EVERSON, 1992). 33
- Quadro 2 - Causas e possíveis mecanismos envolvidos na utilização de probióticos (MARTEAU e RAMBAUD, 1993; YAESHIMA , 1996). 38

## Lista de Figuras

- Figura 1 - Porcentagem de ganho de peso corporal total (g) após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 56
- Figura 2 - Ingestão alimentar (g) após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 57
- Figura 3 - Porcentagem de absorção e captação de  $^{14}\text{C}$ -triloleína dos tecidos (porcentagem de  $^{14}\text{C}$ -lipídios absorvidos e acumulados/grama de tecido) RET, EPI, FIG e TAM após oito semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 64
- Figura 4 - Taxa de lipogênese ( $\mu\text{mol}$  de  $^3\text{H}_2\text{O}$  incorporado em lipídios/g de tecido /hora.) após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 67
- Figura 5 - Conteúdo de gordura (mg/100mg) dos tecidos RET, EPI, FIG e TAM após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). mg/100mg de tecido. 70
- Figura 6 - Taxa de lipólise ( $\mu\text{mol}$  de glicerol liberado/ h/ 100 mg de tecido ) nos tecidos RET, EPI, FIG e TAM após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 73

Figura 7 - A área (A) e diâmetro (D) dos adipócitos ( $\mu\text{m}$ ) nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

Figura 8 - A área (A) e diâmetro (D) dos adipócitos ( $\mu\text{m}$ ) nos tecidos adiposos brancos epididimal (EPI) após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF)

## Lista de Tabelas

- Tabela 1 - Porcentagem de ganho de peso corporal total (g) e ingestão alimentar total após oito semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 55
- Tabela 2 - Peso absoluto dos tecidos RET, EPI, FIG, GAST e TAM após 8 oito semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e no Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 59
- Tabela 3 - Peso relativo dos tecidos (g/100g) dos tecidos RET, EPI, FIG, GAST e TAM após 8 oito semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e no Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 61
- Tabela 4- Porcentagem de absorção e captação de  $^{14}\text{C}$ -trioleína (porcentagem de  $^{14}\text{C}$ -lipídios absorvidos e acumulados/grama de tecido) dos tecidos RET, EPI, FIG e TAM após 8 semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 63
- Tabela 5 - Taxa de lipogênese “in vivo” ( $\mu$  mol de  $^3\text{H}_2\text{O}$  incorporada em lipídios/g de tecido.h) dos tecidos RET, EPI, FIG e TAM após 8 semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e no Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 66
- Tabela 6 - Conteúdo de gordura (g/100g) dos tecidos RET, EPI, FIG e TAM após 8 semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e no Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 69

Tabela 7 - Taxa de lipólise ( $\mu\text{mol}$  de glicerol liberado/ h/ 100 mg de tecido) dos tecidos RET, EPI, FIG e TAM durante oito semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 72

Tabela 8 - Efeitos do produto fermentado de soja sobre a área (A) e diâmetro (D) dos adipócitos ( $\mu\text{m}$ ) nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI) durante oito semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). 75

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1.0 INTRODUÇÃO</b>  | 18 |
| 1.1 Mecanismos de Regulação do Metabolismo Lipídico                                    | 18 |
| 1.1.1 Regulação da Lipogênese  | 18 |
| 1.1.2 Regulação da Lipólise  | 24 |
| 1.1.3 Oxidação do Ácido Graxo  | 25 |
| 1.2 Fisiopatologia da obesidade  | 27 |
| 1.3 Estratégias de Intervenção para o Controle da Obesidade: Soja e/ ou Lactobacillus. | 32 |
| <b>2.0 JUSTIFICATIVA</b>   | 42 |
| <b>3.0 OBJETIVOS</b>   | 43 |
| <b>4.0 MATERIAIS E MÉTODOS</b>   | 44 |
| 4.1. Animais e Condições Experimentais   | 44 |
| 4.2. Esquema Experimental  | 44 |
| 4.3 Composição e oferta das diferentes dietas  | 45 |
| 4.3.1 Dieta Padrão   | 45 |
| 4.3.2 Produto Fermentado de Soja   | 45 |
| 4.3.3 Dieta Hipercolesterolêmica   | 46 |
| 4.4 Controle de Peso e Consumo Alimentar   | 47 |
| 4.5 Experimentos e Coleta de Amostras  | 47 |
| 4.6 Determinações Bioquímicas  | 47 |
| 4.6.1 Determinação do conteúdo de gordura  | 48 |
| 4.6.2 Taxa de Lipogênese “in vivo”   | 48 |
| 4.6.3 Medida da taxa de lipólise   | 49 |
| 4.6.4 Medida da taxa de captação e absorção de <sup>14</sup> C-trioleína               | 50 |
| 4.6.5 Medida de área e diâmetro de células adiposas                                    | 51 |
| <b>5.0 ESTATÍSTICA</b>   | 53 |
| <b>6.0 RESULTADOS</b>  | 54 |



|   |    |
|---|----|
| 6.1 Efeitos do produto fermentado de soja sobre o peso corporal (g) e ingestão (g) alimentar em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.  | 54 |
| 6.2 Efeitos do produto fermentado de soja sobre o peso dos tecidos (g) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.  | 58 |
| 6.3 Efeitos do produto fermentado de soja sobre o peso dos tecidos (g/100g do peso corporal) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.  | 60 |
| 6.4 Efeitos do produto fermentado de soja sobre a porcentagem de absorção captação de $^{14}\text{C}$ trioleína (expressos como porcentagem de $^{14}\text{C}$ -lipídios absorvidos e acumulados por grama de tecido) nos tecidos em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol. | 62 |
| 6.5 Efeitos do produto fermentado de soja sobre a taxa de lipogênese “in vivo” ( $\mu$ mol de $^3\text{H}_2\text{O}$ incorporada em lipídios/g de tecido.h) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.   | 65 |
| 6.6 Efeitos do produto fermentado de soja sobre o conteúdo de gordura (g/100g de tecido) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.  | 68 |
| 6.7 Efeitos do produto fermentado de soja sobre a taxa de lipólise (em $\mu\text{mol}$ de glicerol liberado por hora por 100 mg de tecido) nos tecidos em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.  | 71 |
| 6.8 Efeitos do produto fermentado de soja sobre a área (A) e diâmetro (D) dos adipócitos ( $\mu\text{m}$ ), nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.   | 74 |
| <b>7.0 DISCUSSÃO</b>  | 78 |
| 7.1 Efeito do produto fermentado de soja sobre o peso corporal e ingestão alimentar em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.   | 81 |
| 7.2 Efeito do produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal e epididimal em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.   | 86 |
| 7.3 Efeito do produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico no tecido hepático em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.  | 94 |

|  |     |
|--|-----|
| 7.4 Efeito do produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico no tecido adiposo marrom em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol. | 99  |
| 7.5 Efeito do produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico no músculo gastrocnêmio de ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.  | 101 |
| 7.6 Considerações finais   | 104 |
| <b>8.0 CONCLUSÕES</b>  | 106 |
| <b>REFÊRENCIAS</b>   | 108 |

## 1.0 INTRODUÇÃO

### 1.1 Mecanismos de Regulação do Metabolismo Lipídico

#### 1.1 Regulação da Lipogênese

A lipogênese engloba os processos da síntese de ácido graxo e da subsequente síntese de triglicérides, que ocorrem no fígado e no tecido adiposo.

Pesquisas recentes têm demonstrado que além dos fatores nutricionais e hormonais existem os fatores transcricionais, envolvidos na regulação da lipogênese.

Em relação aos fatores hormonais, sabe-se que a insulina estimula o tecido adiposo, aumentando a síntese, o deslocamento e a atividade da lipoproteína lipase, que age nos triglicérides da VLDL e dos quilomícrons liberando os ácidos graxos. Simultaneamente promove a captação da glicose, fornecendo substrato para a síntese do glicerol-3-P e o armazenamento dos ácidos graxos como triglicérides. Ainda a insulina promove o aumento na atividade da carboxilase do acetil-CoA, aumentando a síntese dos ácidos graxos no tecido adiposo (DIAMOND e EICHLER, 2002). Bai et al. (1996) e Iritani et al. (2000) relataram que nos adipócitos, esses processos lipogênicos são geralmente suprimidos pela leptina, portanto opondo-se à ação da insulina.

Assimacopoulos-Jeannet et al. (1995) já haviam descrito que a insulina tem efeitos em longo prazo na expressão dos genes lipogênicos, provavelmente através do elemento regulador do esteroil ligado a proteína-1 do fator de transcrição (SREBP-1). A insulina estimula o SREBP-1, ativando a expressão e a atividade da glucoquinase,

aumentando, assim, a concentração de um metabólito da glicose que provavelmente media seus efeitos na expressão do gene lipogênico (FORETZ et al., 1999).

Há um consenso crescente na literatura que a leptina limita a deposição de gordura não apenas pela inibição da ingestão de alimentos, mas também interferindo em vias metabólicas específicas tanto no tecido adiposo como em outros tecidos. A leptina estimula a liberação de glicerol dos adipócitos (SIEGRIST-KAISER et al., 1997), pela estimulação da oxidação do ácido graxo e pela inibição da lipogênese (BAI et al., 1996; WANG et al., 1999). Soukas et al. (2000) relataram que esse segundo efeito é realizado pela inibição da expressão dos genes envolvidos na síntese do ácido graxo e dos triglicérides.

A leptina é secretada pelos adipócitos e age de modo autócrino aumentando a expressão da proteína UCP2 (uncoupling protein 2). A leptina age no hipotálamo controlando o consumo dos alimentos, termogênese e secreção de múltiplos neurotransmissores, incluindo o neuropetídeo Y (NPY), a galanina (GAL), e o hormônio melanina (MCH). Além disso, a leptina aumenta a neurotensina (NT) e a proopiomelanocortina (POMC) e o tônus simpático. Aumenta a oxidação dos ácidos graxos no pâncreas e regula a UCP2 e a UPC3 no músculo esquelético (CISTERNAS, 2002).

Existem determinados fatores que inibem a leptina como as catecolaminas, androgênios e o jejum prolongado. Entretanto outros estimulam a liberação da leptina como os glicocorticóides, estrogênios, insulina, carboidratos e gorduras, os quais estimulam o hipotálamo aumentando a expressão dos fatores anorexígenos (hormônio liberador de corticotrofina e peptídeo glucagon –símile), e diminuindo a expressão dos

fatores orexígenos (neuropeptídeo Y, galanina e melanocortina) isto resulta em diminuição da ingestão alimentar (DIAMOND e EICHLER, 2002).

Outro hormônio que tem importante influência na lipogênese é o hormônio de crescimento (GH). O GH reduz a lipogênese no tecido adiposo, resultando em perda de gordura, com ganho de massa muscular (ETHERTON, 2000). Esses efeitos parecem ser mediados por dois processos. Em um dos processos o GH parece diminuir a sensibilidade da insulina, resultando inibição da expressão do ácido graxo sintetase no tecido adiposo (YIN et al., 1998). Os detalhes desse mecanismo são ainda desconhecidos, mas o GH provavelmente interfere na sinalização do pós receptor da insulina. No segundo processo, o GH diminui a lipogênese pela fosforilação dos fatores de transcrição Stat5a e 5b. (TEGLUND et al., 1998).

Outro fator endócrino / autócrino que pode interferir na regulação da lipogênese descrito por Cianflone (1997), é a proteína estimulante da acilação (ASP), derivada do adipócito, encontrada no plasma, que age como um importante modulador da deposição de triglicérides no tecido adiposo (CIANFLONE et al., 1999). A ASP aumenta a síntese de triglicérides no tecido adiposo pelo aumento da atividade da aciltransferase do glicerolfosfato, e, em uma maior extensão, pela a atividade da aciltransferase do diacilglicerol (YASRUEL et al., 1991). A ASP induz o transporte da glicose através da translocação dos transportadores de glicose das vesículas intracelulares para a membrana plasmática (GERMINÁRIO et al., 1993; MASLOWSKA et al., 1997), fornecendo, desse modo, a glicose necessária para a síntese de glicerol-3-P, e energia disponível para a síntese de ácido graxo e de triglicérides. Embora a insulina aumente a produção da ASP, os níveis no soro do quilomícron parecem ser o

---

agente principal na produção da ASP pelo tecido adiposo (MASLOWSKA et al., 1997). Portanto, quando a ação da insulina é evidente, a ASP produzida pelo adipócito promove a síntese de TG no tecido adiposo .

Sabe-se que a lipogênese é sensível às alterações na dieta. Os ácidos graxos poli-insaturados diminuem a lipogênese pela supressão da expressão do gene no fígado, incluindo o gene envolvido na síntese do ácido graxo (JUMP et al., 1994).

Kersten (2001) descrevem que uma dieta rica em carboidratos estimula a lipogênese no fígado e no tecido adiposo, aumentando as concentrações triglicérides plasmáticos pós-prandial. É sabido que este tipo de dieta eleva a glicose plasmática, e estimula a lipogênese através de vários mecanismos. Primeiramente a própria glicose é um substrato para a lipogênese, podendo ser convertida glicoliticamente para o acetil-CoA, a glicose promove a síntese do ácido graxo. Segundo, a glicose induz a expressão dos genes lipogênicos, finalmente a glicose aumenta a lipogênese pela estimulação da liberação de insulina e pela inibição na liberação de glucagon pelo pâncreas.

No jejum ocorre diminuição da glicose plasmática, redução da lipogênese no tecido adiposo com concomitante aumento nos ácidos graxos livres do plasma, que associada a uma taxa acentuada de lipólise acarreta em perda final de triglicérides a partir das células de gordura. Em contraste, no fígado a síntese de triglicérides é acentuada, devido às grandes quantidades de ácidos graxos provenientes do tecido adiposo, resultando em uma leve esteatose hepática.

A dieta ingerida influencia a leptina liberada, sendo que curto tempo de restrição calórica pode diminuir os níveis circulantes de leptina. Segundo pesquisas realizadas

em roedores a leptina tem funções de reduzir o consumo alimentar e aumentar a energia liberada inibindo as ações neurofisiológicas hipotalâmicas do neuropeptídeo Y, cuja ação deste é aumentar o apetite (CISTERNAS, 2002).

Tanto a insulina como a alimentação estimulam o aumento na atividade da enzima lipase lipoproteíca.

Resumindo, a insulina estimula a síntese de proteínas, o aumento da lipogênese no fígado, no tecido adiposo e tecido muscular. Entretanto, inibe a produção de glicose no fígado e glucagon no pâncreas, a lipólise nos tecidos adiposos, assim como a proteólise e liberação de aminoácidos pelos tecidos musculares (BRAY, 1994).

Vários fatores de transcrição foram descobertos nos últimos anos, dentre eles destacam-se os SREBP (elementos de regulação de esteróis ligados à proteína), são fatores de transcrição que regulam a expressão dos genes relacionados ao metabolismo do colesterol e do ácido graxo. Quando os níveis de colesterol livre na célula são altos, a SREBP-2 está presente como um precursor imaturo ligado ao retículo endoplasmático. Quando a concentração celular do colesterol diminui, a molécula precursora é proteoliticamente clivada, liberando um fragmento maduro que se desloca para o núcleo. No núcleo, a SREBP-2 madura se liga ao elemento de resposta esterol na região promotora dos genes-alvo e, portanto, ativa sua transcrição (KERSTEN, 2001).

A insulina e a glicose afetam a atividade transcricional da SREBP através de vários mecanismos. Primeiramente, a insulina estimula a expressão do mRNA da SREBP-1 nos adipócitos (KIM et al., 1999) e hepatócitos (FORETZ et al., 1999), efeito mediado provavelmente pela via da fosfatidilinositol-3 quinase (AZZOUT-MARNICHE et

al., 2000). Outro mecanismo descrito relata que a insulina aumenta provavelmente a ativação transcricional da SREBP-1, independentemente das alterações em seus níveis de mRNA, através da fosforilação dependente da quinase do MAP (ROTH et al., 2000). Como a insulina, a glicose estimula a atividade promotora e a expressão de mRNA da SREBP-1 (HASTY et al., 2000).

Os ácidos graxos poli-insaturados também regulam a expressão dos genes lipogênicos. Entretanto, ao contrário da insulina e da glicose e inibem a expressão do SREBP-1 e do seu gene mRNA específico (KIM et al., 1999., MATER et al., 1999), assim como pela inibição do processamento proteolítico do precursor da SREBP-1 (THEWKE et al., 1998).

Estudos *in vitro* estabeleceram claramente a importância dos fatores anteriores de estimulação (USF) na regulação da promoção da síntese do ácido graxo pela insulina. (CASADO et al., 1999). Os efeitos dos USF e da SREBP-1 parecem ser aditivos e independentes (LATASA et al., 2000).

Vale ressaltar outro fator de transcrição no tecido adiposo: o receptor de hormônio nuclear, PPAR $\gamma$ . Apesar de seu nome, essa proteína não é ativada pelos proliferadores do peroxisoma, mas pelos ácidos graxos e seus derivados eicosanóides, como também por drogas da classe da tiazolidinediona (KERSTEN et al., 2000). O PPAR $\gamma$  é parte do programa de diferenciação do adipócito, induzindo a diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos. A expressão do PPAR $\gamma$  é estimulada pela insulina e pela SREBP-1. O PPAR $\gamma$  não têm apenas efeito adipogênico, mas também efeito



lipogênico. O PPAR $\gamma$  apesar de ser precariamente expresso nos hepatócitos, o aumento deste pode estimular a lipogênese (CHAO et al., 2000).

Em conclusão, a SREBP-1, e em uma menor extensão os USF1 e USF2, desempenham um papel central na mediação dos efeitos dos nutrientes e hormônios na expressão do gene lipogênico no fígado. No tecido adiposo o PPAR $\gamma$  é crítico para a regulação da adipogênese e da lipogênese.

### 1.1.2 Regulação da Lipólise

A lipase hormônio sensível (LHS) é uma enzima citoplasmática multifuncional que catalisa a hidrólise das triglicérides, dos diacilglicerois e ésteres de colesterol. Essa enzima é considerada crucial na regulação da lipólise no tecido adiposo devido a sensibilidade aos neurotransmissores e hormônios, particularmente a leptina e insulina, que estimulam ou inibem sua atividade, respectivamente. Os ácidos graxos livres liberados na lipólise são metabolizados pelos tecidos periféricos, sendo o glicerol liberado captado pelo fígado (HOLM et al., 2000).

A atividade desta enzima (LHS) também foi documentada no miocárdio, músculo esquelético, cérebro, glândula adrenal, macrófagos e testículo (KRAEMER et al, 1993; HOLM et al., 2000). A importância da LHS no tecido, não adiposo, é devido à liberação de ácidos graxos ou de outras moléculas que atuam regulando a secreção de insulina (RODUIT, 2001). Além disso, foi demonstrado que determinados hormônios como a adrenalina, noradrenalina, adrenocorticóides, hormônio de crescimento, glucagon,

tiroídeos ( $T_3$  e  $T_4$ ) aumentam a atividade enzimática, enquanto a insulina tem efeito inibitório (SCHAWARTZ et al. 1989).

A atividade da LHS é acentuada durante a termogênese adaptativa no tecido adiposo marrom - TAM (HIMMS-HAGEN, 1989) e está relacionada à liberação de ácidos graxos livres (AGL) na circulação a partir do tecido adiposo branco. A liberação de ácidos graxos livres, influencia a utilização e o armazenamento de carboidrato como também de lipídio em outros tecidos, tais como o fígado, o músculo e, possivelmente, as células- $\beta$  pancreáticas (RODUIT, 2001).

Mais de vinte anos atrás, dados evidenciaram um modelo no qual os agentes  $\beta$ -adrenérgicos aumentavam a concentração intracelular do AMP cíclico que, ativando a proteína quinase A (PKA), que por sua vez, fosforila e estimula a LHS. Vários estudos têm sugerido que não apenas a ativação desta enzima é necessária para a lipólise total, mas também sua translocação para o substrato (a gotícula de gordura). Desta forma, Sztalryd et al. (2003) descobriram uma proteína reguladora: a perilipina. No estado basal, se localiza na periferia da gotícula de lipídio (GREENBERG et al., 1993), nos adipócitos e nas células esteroideogênicas e contém 6 locais de fosforilação do AMP cíclico, nos quais os três terminais amino parecem ser os mais importantes para a função (TANSEY et al., 2003). Os autores acima citados sugerem que a perilipina fosforilada dispersa as triglicérides, possibilitando a enzima lipoproteína lipase maior acesso a gotícula de gordura (BIRNBAUM, 2003).

### 1.1.3 Oxidação do Ácido Graxo

A leptina parece aumentar a oxidação do ácido graxo no tecido não adiposo pela estimulação na atividade da carnitina palmitol transferase 1 e pela inibição na atividade da acetil-CoA carboxilase, as enzimas limitantes da taxa para a oxidação e a síntese do ácido graxo, respectivamente (BAI et al., 1996). A utilização do ácido graxo pelo tecido não adiposo é também regulada por outro hormônio derivado do adipócito chamado de adiponectina. A ativação proteolítica libera um fragmento globular que induz a oxidação do ácido graxo livre no músculo (FREUBIS et al., 2001).

Os ácidos graxos não esterificados regulam a expressão do gene da UCP3 (WEIGLE et al., 1998). As proteínas de desacoplamento (UCP) atuam na regulação da termogênese e, em geral, no gasto energético dos mamíferos (RICQUIER et al., 2002). As UCPs promovem o desacoplamento da cadeia respiratória pelo aumento na permeabilidade ao próton da membrana mitocondrial interna. A UCP1, que é expressa apenas no TAM, é um componente-chave do maquinário termogênico dos mamíferos na resposta ao frio, e pode também estar envolvida na termogênese induzida pela dieta (NEDERGAARD et al., 2001). Fatores hormonais tais como estímulos adrenérgicos, retinóides ou moléculas derivadas de ácido graxo influenciam a expressão dos genes da UCP (BRUN et al. 1999).

## 1.2 Fisiopatologia do Metabolismo Lipídico

Entre os vários processos fisiopatológicos relacionados ao metabolismo lipídico, a obesidade tem se destacado o ator principal.

A obesidade é o resultado de fatores genéticos, comportamentais, ambientais, culturais, psicológicos e sociais que promovem um desequilíbrio energético (balanço energético positivo), sendo o excesso depositado no tecido gorduroso. A relativa contribuição de cada um destes fatores tem sido estudada, assim como o papel dos genes e a importância da regulação do peso corporal (RACETTE et al., 2003).

Entre as conseqüências associadas à obesidade incluem-se as doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral, hipertensão, diabetes mellitos (tipo 2), dislipidemias, osteoartrites, artroses, desordens respiratórias como a apnéia do sono e a asma, além de estar intimamente relacionada ao câncer de mama, do endométrio e da próstata (RACETTE et al., 2003).

Após revisões da literatura vários autores enfatizaram a íntima associação da obesidade a resistência insulínica, principalmente a obesidade andróide, onde o acúmulo de gordura é predominante na região abdominal (ou central) (SPARROW et al., 1986; CAREY et al., 1996). A resistência insulínica pode ser definida como diminuição na resposta biológica para uma dada concentração de insulina. Despres e Marette (1994) propõem que vários fatores podem desencadear a resistência insulínica, como por exemplo: os genéticos, o acúmulo de gordura abdominal, os ácidos graxos livres, os hormônios sexuais esteróides, o fator  $\alpha$  de necrose tumoral, a hiperinsulinemia e a hiperglicemia.

O acúmulo de gordura nesta região e a presença da resistência insulínica têm sido ambas associadas as dislipidemias, como o aumento na concentração de colesterol total, LDL-c, VLDL-c, IDL-c, triglicerídes e diminuição das lipoproteínas de alta densidade (HDL). Neste sentido, inúmeros estudos relataram que a obesidade, as dislipidemias, o diabetes tipo II, a hipertensão e as doenças cardiovasculares apresentam alterações metabólicas inter-relacionadas, sendo esta interação descrita como Síndrome Plurimetabólica (NCEP, 2001).

Estudo recente realizado por Nieves et al. (2003) em 196 indivíduos com média de idade de 52,7 anos, demonstrou que quanto maior a quantidade de gordura central, maiores os valores de insulina, apolipoproteína B, VLDL-c, IDL-c. e menores os valores de HDL-c. Concluíram que o perfil das lipoproteínas presentes parecem ser o resultante primário do aumento da gordura central, provavelmente devido ao desenvolvimento da resistência a insulina. Ainda estes autores sugeriram que a redução da gordura abdominal por medicação ou mudanças no estilo de vida, por modificação dietética ou aumento da atividade física, poderiam contribuir melhorando perfil lipídico e evitando o desenvolvimento da aterosclerose.

As mudanças tanto hipertróficas como as hiperplásicas dos tecidos adiposos brancos podem acarretar alterações hemodinâmicas e metabólicas, e estas são relacionadas ao desenvolvimento das dislipidemias, hiperinsulinemia e hipertensão (IMBEAULT, 1999)

Foi verificado que nos indivíduos magros os adipócitos são sensíveis à ação da insulina, a qual estimula a captação dos ácidos graxos esterificados, via lipase lipoprotéica e inibi a lipólise. Por estes mecanismos o aumento da insulina estimula a

---

entrada dos triglicerídeos para os tecidos adiposos, evitando a liberação dos ácidos graxos livres para a circulação sanguínea. Entretanto, em indivíduos obesos o adipócito se torna hipertrófico e resistente à insulina (acarretando na hiperinsulinemia), sendo que uma porção dos ácidos graxos são captados, enquanto a outra parte fica livre na circulação sanguínea aumentando a oxidação lipídica. Acredita-se que a resistência insulínica no tecido adiposo branco seja o maior fator contribuinte para o desenvolvimento de riscos cardiovasculares em indivíduos obesos. Reconhece-se ainda que o excesso dos lipídeos circulantes pode prejudicar as funções musculares, pancreáticas e do tecido hepático (FRAYN et al., 1997).

Quanto à isto, observou-se que a hiperinsulinemia do obeso pode ser resultante da diminuição na sensibilidade do fígado a este hormônio, além de uma deficiência na captação do mesmo (BONADONNA et al., 1990). Estudos posteriores por Polonsky et al. (1996) demonstraram que indivíduos obesos apresentam resistência à ação da insulina no músculo, desencadeada pela diminuição na sensibilidade do receptor ou na resposta intercelular dos mecanismos implicados na transcrição de sinais de ligação da insulina ao respectivo receptor.

Iizuka et al. (2002) estudaram os efeitos dos ácidos graxos livres (AGL), sobre as células beta do pâncreas e metabolismo lipídico durante a secreção de insulina. Verificaram que longo tempo de exposição das células pancreáticas aos ácidos graxos livres pode diminuir o fluxo de piruvato para o interior da mitocôndria, aumentando a beta oxidação por diminuição da proteína piruvato carboxilase. Concluíram que os AGL contribuem para uma insensibilidade das células beta à glicose que foi associada com uma diminuição do conteúdo NADPH citosólico. Sendo assim, os indivíduos obesos e

os diabéticos do tipo 2 tem tendência a desenvolverem a hiperinsulinemia e hiperglicemia.

Recente estudo realizado no Brasil em nipo-brasileiros revelou que uma parcela destes eram geneticamente pré-dispostos à resistência a insulina, quando submetidos ao ambiente desfavorável. Apresentaram, comprometimento da sensibilidade dos tecidos periféricos à ação insulínica, varias das manifestações da síndrome plurimetabólica, desencadeada pelo excesso de adiposidade corporal. Concluíram que estes, apesar de não serem obesos apresentam aumento da obesidade abdominal o que pode contribuir aumentando os níveis lipídicos (LERARIO et al., 2002).

As dislipidemias podem ser primárias ou secundárias e são resultantes de inúmeros fatores ambientais e determinação genética (STUBBS et al., 1995). Entre os fatores genéticos incluem-se as alterações neuro-endócrinas e distúrbios metabólicos (BJÖRNTORP, 1997). Quanto aos fatores ambientais verificou-se que o desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto energético diário, assim como a obesidade, são fortes determinantes para o desenvolvimento e manutenção de quadros típicos de dislipidemias (BUCHOWSKI e SUN, 1996; DENADAI et al., 1998; LEAN, 1998).

Acredita-se ainda que os indivíduos obesos apresentam diminuição na atividade das enzimas aeróbicas (citrato cinase,  $\beta$  Hidroxiacil CoA desidrogenase), glicolíticas (PFK) e da carnitina palmitoil transferase (KELLEY et al., 1999), dificultando o gasto energético e conseqüentemente a perda de peso. Karbowska et al. (2001) estudaram a expressão gênica (mRNAs) das enzimas lipogênicas no tecido adiposo de ratos submetidos a períodos de jejum e realimentação (3 dias de cada tratamento). Os resultados relatam que mesmo ocorrendo redução do peso corporal, este tipo de

tratamento acarretou em aumento na expressão gênica das enzimas lipogênicas - mRNAs (acetil Coenzima A, e acetil CoA carboxilase, adenosina trifosfato, citrato liase, enzima málica e na glicose 6 fosfato desidrogenase) dos tecidos adiposos brancos após múltiplos ciclos de jejum e realimentação. Os autores concluíram não ser interessante este tipo de tratamento, uma vez que o aumento na síntese lipídica pode desencadear o desenvolvimento da obesidade.



### 1.3 Estratégias de Intervenção para o Controle da Obesidade : Soja e/ ou Lactobacillus .

Paradoxalmente ao aumento no número de indivíduos obesos observados anteriormente, diversas propostas estão surgindo com o objetivo de evitar ou ainda minimizar os efeitos mórbidos da obesidade, pode-se citar os programas de dietas ou para o desenvolvimento de dietas, a produção de equipamentos de ginástica e fitas de vídeos de exercícios, cirurgias e o desenvolvimento de drogas farmacológicas (NHI CONFERENCE, 1991; BRAY e TARTAGLIA, 2000; KELLEY e GOODPASTER, 1999).

Assim, com respeito aos vários tipos de dietas, as protéicas têm se destacado entre as demais, uma vez que dietas ricas em legumes protéicos além de promoverem a saciedade, ocasionam alterações na secreção da insulina como de colecistoquinina, contribuindo para a perda de peso. Contudo, o tratamento com dietas protéicas de origem vegetal acarretaria em menor sobrecarga renal que a ingestão de proteína animal, sendo mais interessante à utilização das dietas protéicas de origem vegetal (PECIS et al, 1994; ANDERSON et al., 1999).

Em relação às dietas de origem vegetal a soja tem sido utilizada atualmente como coadjuvante no tratamento da obesidade. As principais fontes de soja na alimentação são: feijões, o óleo, o molho de soja (shoyu), a farinha, o leite, o concentrado protéico (que exclui a presença de gorduras e mantém os carboidratos e contém 75 % de proteína). Os grãos de soja, ou ainda a soja seca ou as fibras podem modificar a absorção e o metabolismo dos ácidos biliares, o metabolismo e a síntese dos ácidos graxos livres de cadeia curta (AGCC), estes por sua vez podem causar

várias alterações orgânicas, que estão representadas no quadro à abaixo (EVERSON, 1992):

Quadro 1 - Locais de ação dos ácidos graxos livres de cadeia curta e possíveis conseqüências (EVERSON, 1992).

| Ação dos AGCC   | Conseqüências   |
|---|---|
| Alteração no tempo de passagem do alimento no trânsito gastrointestinal         | Modifica a taxa de absorção lipídica e a conversão das lipoproteínas no intestino |
| Modificação na secreção e na atividade das enzimas pancreáticas                 | Afeta a taxa de absorção e a extensão da absorção no intestino delgado            |
| Formação de micelas   | Altera a hidrólise e absorção dos lipídios  |
| Variação na motilidade gastrointestinal   | Influencia a taxa e a quantidade de lipídios absorvidos                           |
| Atuação como barreira protetora   | Diminui a absorção de lipídios  |
| Modifica a taxa do fluxo linfático  | Modifica a taxa de entrada das lipoproteínas na circulação periférica             |
| Influencia a secreção de insulina e outros hormônios pancreáticos e intestinais | Afeta o metabolismo hepático, a síntese e a secreção das lipoproteínas            |

Evidências epidemiológicas sugerem que populações que consomem dietas ricas em soja e seus produtos apresentam menor taxa de mortalidade por doenças

coronarianas (LICHTENSTEIN, 1998). Estas afirmações podem ser confirmadas após o estudo realizado por Nagata et al. (1998) que analisaram o programa anual de *check-up* na cidade de Takayama, Japão. Neste programa participaram 1242 homens e 3596 mulheres, sendo controlado a idade, hábito de fumar, ingestão alimentar (total de proteínas e gorduras). Estes pesquisadores concluíram que os indivíduos que ingeriam produtos de soja apresentaram diminuição no colesterol total. Estes mesmos autores propõem que os produtos da soja auxiliam no controle do colesterol humano.

Nas últimas décadas o interesse pelos fitoestrógenos, particularmente os obtidos pela soja tem crescido exponencialmente, devido às modificações que estes ocasionam no metabolismo lipídico e os inúmeros benefícios no controle de doenças. Anderson et al. (1995) analisaram 38 trabalhos da literatura sobre os efeitos da ingestão de soja texturizada e subprodutos da soja (ingestão variou de 17 g/dia à 124g/dia). Observaram que o consumo desta em substituição à proteína animal promoveu redução de 9,3% no colesterol total, 12,9% no LDL-c, e 10,5% nas triglicérides. Estes autores concluíram que a soja, mais especificamente, as isoflavonas contidas nesta, exercem ação nos lípidios, como efeitos antioxidantes, antiproliferativos sobre células musculares lisas, evitando a formação de trombos, conseqüentemente previndo a aterosclerose. Ainda a presença das proteínas da soja auxiliam na redução da excreção de cálcio, previndo a osteoporose ( BARZEL, 1997).

É sabido que as principais isoflavonas encontradas na soja e seus derivados são a daidzeína, a genisteína e a gliciteína da soja, as quais apresentam-se como várias formas de glicosídeos conjugados. Do total das isoflavonas dois terços são de glicosídeos conjugados de genisteína, sendo o restante composto de conjugados de

daidzeína e pequenas quantidades de gliciteína. Nos produtos fermentados de soja predominam a genisteína e daidzeína devido a ação das glicosidades bacterianas (STECHELL, 1998).

As isoflavonas estão presentes nos alimentos ligadas as agliconas, estas são capazes de atravessar a membrana plasmática. No lúmen intestinal, as bactérias convertem parte destas agliconas em outras moléculas e são absorvidas pela barreira epitelial do intestino. Este processo ocorre passivamente via micelas, após a absorção são incorporadas nos quilomícrons, os quais distribuem as isoflavonas nos tecidos extra hepáticos, onde irão exercer seus efeitos metabólicos, posteriormente retornam ao fígado como quilomícrons remanescentes (SETCHELL et al., 1998).

Sabe-se que as isoflavonas podem interferir na regulação da atividade das proteínas como a tirosina quinase, inibindo-as, evitando o crescimento de células cancerígenas. Atuam ainda na regulação do ciclo celular e nos efeitos antioxidantes. Já foi descrito na literatura a importância das isoflavonas na prevenção do câncer uterino, de próstata e mama (ESTEVES et al., 2001).

Entretanto, após várias investigações tem se observado uma ampla variedade na composição e na concentração das isoflavonas entre os diferentes produtos obtidos da soja, este fator provavelmente se deve as condições ambientais em que este determinado produto foi submetido e as diversas formas de processamento da soja (FARMAKALIDIS et al., 1985; SETCHELL et al., 1997). Para isto, Reddy et al (1994) após realizarem experimentos *in vitro* com diversas formas de processamento da soja, verificaram que os substratos que continham óleo de soja e soja prensada (extruded) apresentavam menor digestibilidade do que os substratos que continham soja cru ou

torrada. Ainda os ácidos graxos liberados nos grãos de soja torrado foram sujeitos a biohidrogenação dos ácidos graxos livres, menor que a soja cru ou prensada, sugerindo que os ácidos graxos livres nos grãos de soja torrado são protegidos das bactérias do intestino. Ainda, Boever et al (2000) relataram que a suplementação com germe de soja triturada estimula a fermentação de bactérias no intestino.

Os produtos da soja são importantes componentes da dieta em muitos países e esta tem sido usada para obter produtos fermentados, assim como iogurtes de soja. Especial atenção tem sido relatada nos dias atuais para a utilização de *Bifidobacterium spp.*, *B. longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *rhamnosus* e *enterococcus faecium* conjugados ou não ao leite de soja, uma vez que estas espécies reúnem as condições adequadas para fazer face às necessidades fisiológicas do hospedeiro pelo que, por isso, poderão mais facilmente colonizar o intestino (BUONO et al., 1990; MURTI et al., 1993; ABRAHAM e ANTONI, 1999).

Na realidade, desde muito tempo ao longo da história do homem, os microorganismos têm sido considerados importantes para a saúde dos indivíduos. O historiador Romano Plínio, 76 DC recomendou a administração de produtos fermentados para o tratamento de gastroenterites. Desde os avanços da área microbiológica, pesquisadores atribuem aos microorganismos o resultado do balanço microbial do intestino (TISSIER, 1984; ROBERFROID et al., 1995). No princípio do século XX, Tissier defendia que as bifidobactérias eram importantes para a saúde e nutrição das crianças e dos recém nascidos afetados por diarreia; tal efeito foi atribuído à capacidade das bifidobactérias de removerem as bactérias putrefativas responsáveis

pelas desordens gástricas, e de restabelecerem os microorganismos intestinais dominantes.

Em 1980, iniciaram-se no Japão diversas propagandas revelando a importância dos alimentos funcionais para a saúde dos homens, este conceito aumentou o consumo destes produtos. Posteriormente, o crescimento, tanto na produção como no consumo, atingiu os Estados Unidos da América, e em 1997 a Europa (STANTON et al., 2001). Durante as últimas décadas as propriedades nutritivas e terapêuticas dos alimentos funcionais incorporados por bactérias probióticas têm sido alvo de atenção de diversos pesquisadores como Marteau e Rambaud (1993) e de Yaeshima (1996), que após revisões da literatura chegaram às conclusões contidas no quadro a seguir:

Quadro 2 - Causas e possíveis mecanismos envolvidos na utilização de probióticos (MARTEAU e RAMBAUD, 1993; YAESHIMA, 1996).

| Efeito benéfico dos microorganismos                  | Possíveis causas e mecanismos   |
|--|---|
| Melhor digestibilidade                               | Degradação parcial de proteínas, lipídios e hidratos de carbono   |
| Melhor valor nutritivo                               | Níveis elevados das vitaminas do complexo B   |
| Melhor utilização da lactose                         | Níveis reduzidos de lactose no produto e maior disponibilidade de lactase   |
| Ação antagônica contra agentes patogênicos entéricos | Distúrbios como diarreia, colite da mucosa, inibidores microbianos  |
| Ação anticarcinogênica                               | Conversão de potenciais pré – carcinogênicos em compostos menos perniciosos. Inibe o cancro do trato gastrointestinal e degradação dos pré carcinogênicos |
| Ação hipocolesterolêmica                             | Produtores de inibidores da síntese de colesterol e triglicérides plasmáticos   |

Nos dias atuais os microorganismos podem ser transportados de diversas formas no organismo. Os compostos bifidogênicos podem ser considerados transportadores ideais, estes são ingredientes não digeríveis que afetam de modo benéfico o hospedeiro, estimulando o crescimento (multiplicação das bactérias) e /ou a exibição de atividade seletiva em relação a um número limitado de bactérias do intestino, capazes de contribuir beneficemente para a saúde. Os fatores bifidogênicos ou

---

prebióticos mais utilizados são os fruto-oligossacarídeos de ocorrência natural na soja, milho, cebola e aspargos, entre outros (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

Taylor e Williams (1998) após realizarem uma extensa revisão na literatura (1974-1997) sobre os probióticos e prebióticos, observaram que a utilização de probióticos na forma de leite fermentado em humanos em alguns dos estudos reduziu as concentrações de colesterol total. Entretanto, os autores relataram que novos estudos devem ser realizados controlando-se a quantidade do produto administrado, o tempo, a ingestão alimentar e a energia liberada por estes indivíduos. Em relação aos prebióticos estes autores concluíram, após a revisão, que a utilização destes causam inibição na síntese dos triglicerídeos hepáticos e na síntese de VLDL, diminuindo os triglicérides, sendo menos extensa a redução nos níveis de colesterol. Contudo, segundo os autores são necessários novos estudos para analisar o comportamento dos TG e do colesterol, tanto em animais como em humanos após a ingestão alimentar.

Desta forma, torna-se interessante e relevante estudarmos as ações conjugadas da soja e das bifidobactérias, principalmente sobre o metabolismo lipídico que têm sido alvo de muitas dúvidas e questionamentos. Takatsuka et al. (2000) pesquisaram os efeitos da suplementação com o leite de soja fermentado em mulheres japonesas normolipidemicas e na premenopausa, verificaram diminuição de 5.3% na concentração do colesterol total no grupo suplementado. Entretanto, Slavin et al. (1998) relatam que produtos fermentados da soja diminuem o conteúdo de isoflavonas dos produtos ingeridos, entretanto impede a excreção destas, sugerindo que a fermentação aumenta sua disponibilidade.



Dois estudos investigaram os efeitos do *E. faecium* nas concentrações de colesterol. No primeiro estudo, um grupo de 29 homens receberam leite fermentado enriquecido com o *E. faecium* e o *S. thermophilus*, e um grupo controle de 29 homens receberam leite acidificado. Os pesquisadores verificaram diminuição do colesterol sérico de  $0.37 \pm 0.41$  mmol/l nos indivíduos que ingeriram o *E. faecium*, comparado com o grupo que recebeu o leite acidificado após 6 semanas de tratamento (AGERBAEK et al., 1995). Em outro estudo, 87 indivíduos do sexo masculino e feminino, foram submetidos ao mesmo protocolo anteriormente descrito. Estes autores puderam concluir que o LDL reduziu ao longo do experimento em todos os grupos. Entretanto, a redução mais acentuada ocorreu no grupo que recebeu *E. faecium* no período da 4<sup>a</sup> à 12<sup>a</sup> semanas comparado ao grupo placebo. No final das 24<sup>a</sup> semanas e após a 30<sup>a</sup> semana, a diminuição do LDL não foi significativa nos grupos analisados. Estes autores relataram que mais estudos são necessários para se verificar que os efeitos dos probióticos (RICHELSEN et al. 1996).

Estudos de Rossi et al. (1999, 2000), demonstraram que ratos hipercolesterolêmicos, observados 15 dias após o tratamento com um produto fermentado de soja (*Enterococcus faecium* e *Lactobacillus iogurte*), apresentaram redução de 18,4% no colesterol total e aumento na fração HDL-c, quando comparados com animais controle, concluindo que este produto pode ser utilizado como possível coadjuvante no tratamento da hipercolesterolemia.

Além disso, quanto à aplicação terapêutica do produto fermentado, segundo Rossi et al. (1994), e Scutti e Rossi (1996), o “iogurte” de soja tem importante função

no controle de doenças como: combate às diarreias, efeito anticarcinogênico, estimulação do sistema imune, assim como possui efeito hipocolesterolêmico.

Os dados descritos anteriormente sugerem alguns questionamentos:

Será que associação de um prebiótico (soja) a um próbiotico (*Enterococcus faecium* e *Lactobacillus iogurte*) não poderia ser uma nova estratégia no tratamento ou prevenção da obesidade ?

Será que estes fatores associados poderiam alterar a lipólise, a lipogênese e a captação de lipídios da dieta em ratos submetidos a diferentes dietas ?

## 2.0 JUSTIFICATIVA

Considerando os efeitos deste novo produto fermentado de soja acrescido do *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus jugurte* sobre o controle de doenças crônicas, através da realização deste presente estudo, em situação experimental, espera-se identificar as possíveis alterações que este produto irá desencadear no metabolismo lipídico. Além disso pretende-se evidenciar novos parâmetros e/ou recursos no combate às essas doenças que atualmente apresentam alta incidência na população mundial, principalmente a obesidade.

### 3.0 OBJETIVOS

Estudar os efeitos do produto fermentado de soja em relação à dieta padrão e dieta enriquecida com colesterol em ratos machos adultos, sobre os parâmetros abaixo descritos:

- Lipogênese
- Lipólise
- Absorção e captação dos  $^{14}\text{C}$  trioleína
- Adiposidade

## 4.0 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Animais e Condições Experimentais

Foram utilizados para a realização deste estudo ratos machos adultos da Linhagem *Wistar*, pesando entre 220 a 240 g, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos. Durante todo o período experimental (08 semanas), os animais foram mantidos no Biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo, do Departamento de Educação Física e Motricidade Humana, da Universidade Federal de São Carlos, com temperatura ao redor de 24° C e ciclo de 12 horas claro e 12 horas escuro.

Os animais, durante todo o período experimental, tiveram livre acesso a água e ao alimento, sendo parte destes submetidos ao Produto Fermentado. Os ratos foram divididos em grupos, de acordo com o descrito no próximo item.

### 4.2. Esquema Experimental

Foram utilizados 8 ratos machos com idade adulta (90 dias) para cada grupo, pesando 220-240 gramas, divididos em quatro grupos experimentais, tratados com diferentes tipos de dieta, a saber:

a-Dieta padrão e água “*ad libitum*” - (C);

b- Dieta padrão associada ao produto fermentado – (CPF), (1 ml/dia/rato);

c- Dieta Hipercolesterolêmica + Produto Fermentado - (HPF);

#### d- Dieta Hipercolesterolêmica (H)

Os ratos foram mantidos sedentários durante todo o período experimental. Após 08 semanas de tratamento foram sacrificados.

### 4.3 Composição e oferta das diferentes dietas

#### 4.3.1 Dieta Padrão

Para a padronização e a definição da quantidade média ingerida por um grupo de ratos machos adultos, foram acompanhados previamente dois grupos de 8 ratos (8 semanas), mantidos sedentários durante o período anteriormente descrito, e nas mesmas condições experimentais previstas para o presente estudo. Decorrente deste procedimento, estabeleceu-se uma oferta média de dieta padrão primor<sup>r</sup> (23 g proteína, 49 g carboidrato, 4 g gorduras totais, 5 g fibras, 7 g cinza, 6 g vitaminas, 100 g/dieta) sendo ofertados 40 g/dia, num total de 151,2 kcal/dia.

#### 4.3.2 Produto Fermentado de Soja.

O produto foi obtido segundo o procedimento proposto por Rossi et al. (2000), com algumas modificações. Ao extrato aquoso de soja, obtido na Unidade de Desenvolvimento e Produção de Derivados de Soja –UNISOJA/FCF/UNESP, além dos constituintes normais (sacarose, leite em pó desnatado e gelatina) foram adicionados 1,0% de óleo de soja, 1% de lactose e 0,5% de estabilizante. A mistura obtida foi

homogeneizada e tratada termicamente a 95<sup>o</sup>C durante 5 minutos. Após resfriamento do meio, foi efetuada a inoculação em condições assépticas, utilizando-se de um cultivo misto constituído por cepas de *Enterococcus faecium* (1,5% v/v) e *Lactobacillus jugurti* (1,5%v/v). Terminada a inoculação, a mistura foi incubada a 37<sup>o</sup>C até que o pH atingisse o valor de 4,5, aproximadamente. Finalmente, o produto já fermentado foi resfriado e mantido sob refrigeração até o momento de utilização. No produto acabado foi realizada a contagem de células viáveis de cocos e bacilos, empregando-se os meios específicos de M 17-ágar e MRS-ágar. As colônias foram contadas e tiveram suas características morfológicas avaliadas.

Os animais que receberam o produto fermentado de soja tiveram um período de condicionamento de sabores, através das soluções, doce (contendo sacarose - 8%), ácida (solução de sacarose a 8% até pH: 4,5 com ácido láctico), e do placebo (produto idêntico ao fermentado, sem conter os microorganismos) e posteriormente os animais receberam o produto fermentado com o *Enterococcus faecium* e o *Lactobacillus jugurti*.

#### 4.3.3 Dieta Hipercolesterolêmica

A dieta hipercolesterolêmica foi preparada através da incorporação na dieta padrão de 0,15% (p/p) de colesterol Sigma C 8503, diluído em éter etílico P.A, estabilizado com 10ppm de butil hidroxi-tolueno-BHT e 0,5% (p/p) de colato de sódio – Sigma C 1254, diluído em etanol absoluto, de acordo com Rossi e colaboradores (2000), que foi consumida por um período de 15 dias antes do início da fase

experimental visando estabelecer um quadro de hipercolesterolemia nos animais. Após este período os animais continuaram recebendo a dieta hipercolesterolêmica por 8 semanas.

#### 4.4 Controle de Peso e Consumo Alimentar

A medida do peso corpóreo e do consumo alimentar de cada animal foram determinados diariamente durante as oito semanas de estudo. O consumo alimentar foi calculado através da diferença de peso entre a ração oferecida e as sobras. Os valores obtidos foram colhidos durante todo o período experimental e anotados em fichas individuais.

#### 4.5 Experimentos e Coleta de Amostras

Os animais de todos os grupos experimentais (com dieta padrão, hipercolesterolêmica e com produto fermentado) foram avaliados ao final de 08 semanas de tratamento. Os ratos foram sacrificados por decapitação em guilhotina.

Após a decapitação, o plasma, os tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), o tecido adiposo marrom interescapular (TAM), músculo gastrocnêmio (GAST) e fígado (FIG) foram separados, pesados e estocados em freezer a  $-20^{\circ}$  C para posteriores análises bioquímicas e morfológicas.

#### 4.6 Determinações Bioquímicas



#### 4.6.1 Determinação do conteúdo de gordura

O conteúdo de gordura dos tecidos foi determinado pelo método gravimétrico descrito por Oller Do Nascimento e Williamson (1986). Após o sacrifício dos animais, foram retirados os tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), o tecido adiposo marrom interescapular (TAM), o fígado (FIG) e o músculo gastrocnêmio (GAST), pesados e estocados em freezer a  $-20^{\circ}$  C. Aproximadamente 1g de cada tecido foram colocadas em banho-Maria à  $70^{\circ}$  C em tubo contendo 3 ml de solução de KOH (30%) para a digestão e a saponificação. Após 15 minutos em banho-Maria foram adicionados 3ml de etanol absoluto, permanecendo os tubos por mais 1h e 45 minutos em banho-Maria para hidrólise total dos triglicerídeos. A mistura saponificada foi resfriada e acidificada com  $H_2SO_4$  (6 N) e os lipídios foram extraídos com éter de petróleo, os ácidos graxos e o colesterol, foram lavados com água destilada e transferidos para frascos de cintilação previamente pesados e posteriormente mantidos em capela para a evaporação do éter de petróleo (STANBIE et al. 1976). Os resultados foram expressos em mg/100mg de tecido.

#### 4.6.2 Taxa de Lipogênese *in vivo*

A avaliação da taxa de lipogênese nos tecidos foi realizada utilizando-se o método descrito por Robinson e Williamson (1978). Esta técnica estima a taxa de lipogênese total, ou seja mede a incorporação de  $^3H_2O$  (água triciada) nas moléculas

de lipídios, independente dos substratos fisiológicos como a glicose, piruvato, aminoácidos que estejam sendo utilizados no momento. No dia do experimento os animais de todos os grupos receberam uma hora antes de serem sacrificados, intraperitonealmente 3mCi de  $^3\text{H}_2\text{O}$ . Posteriormente os tecidos RET, EPI, TAM, FIG e o (GAST) foram separados, pesados e estocados em freezer a  $-20^\circ\text{C}$ . Foram extraídos os lipídios dos tecidos utilizando-se a técnica descrita no item anterior. Após a evaporação do éter de petróleo, foi adicionado nos frascos de cintilação 5,0 ml de coquetel de cintilação (tolueno-antarox 2:1 (v/v), PPO 0,01% e POPOP (0,26%) para medida da radioatividade. Em seguida, 20  $\mu\text{l}$  de soro, em duplicatas, foram também dissolvidos em coquetel de cintilação para determinação da atividade específica da  $^3\text{H}_2\text{O}$  no soro. Assim cada 1ml de soro = 1g de  $\text{H}_2\text{O}$ . Desta forma,  $1\mu\text{mol}$  de  $^3\text{H}_2\text{O}$ =18  $\mu\text{g}$  de  $\text{H}_2\text{O}$ . A taxa de lipogênese de novo “in vivo” dos tecidos foi expressa em  $\mu\text{mol}$  de  $^3\text{H}_2\text{O}$  incorporado em lipídios/g de tecido /hora.

#### 4.6.3 Medida da taxa de lipólise

Para a determinação da taxa de lipólise cerca de 100 mg de tecido adiposo branco retroperitoneal e epididimal, em duplicatas foram picotados e colocados em 2ml de Krebs Henseleit previamente aerado (pH 7,4), contendo 2% de albumina bovina e incubados a  $37^\circ\text{C}$  por 1 hora. O término da incubação foi realizado pela adição de 0,3 ml de ácido sulfúrico 2N. O meio de incubação foi então neutralizado e utilizado para a determinação de glicerol.

O glicerol liberado foi determinado por método enzimático de Eggstein e Kreutz (1966). Esta metodologia mede a oxidação de NADH, sendo que para cada mol de NADH oxidado é necessário 1 mol de glicerol. Este método mede a queda de densidade óptica resultante da oxidação de NADH na reação de formação de lactato a partir do glicerol presente no meio de incubação. Dessa forma, mede-se a diferença do NADH sem GK (glicero-kinase) e após a adição de GK, que corresponde à quantidade de NAD<sup>+</sup> formado a partir dessa reação. A leitura da absorbância foi realizada a 340 nm. A taxa de lipólise foi expressa em  $\mu\text{mol}$  de glicerol liberado por hora por 100 mg de tecido.

#### 4.6.4 Medida da taxa de absorção e captação de <sup>14</sup>C-trioleína

Os animais receberam uma quantidade conhecida de solução de <sup>14</sup>C-trioleína uniformemente marcada por via intragástrica e quatro horas após a gavagem os animais foram sacrificados por decapitação e os tecidos RET, EPI, TAM, FIG e o GAST foram retirados e pesados, para posterior quantificação dos <sup>14</sup>C-lipídios acumulados. Uma alíquota de 20  $\mu\text{l}$  de <sup>14</sup>C-trioleína foi colocada em 5 ml de líquido de cintilação para contagem da radioatividade. Sabendo-se o quanto de radioatividade estava presente nessa alíquota, foi calculado o total da radioatividade administrada a cada animal. Para a medida da porcentagem de <sup>14</sup>C-lipídios absorvidos, o trato gastrointestinal foi homogeneizado em água na proporção 1:3 (peso/volume). Alíquotas do homogenato foram utilizadas para a extração dos lipídios (STANBIE et al. 1976). Os tecidos também foram submetidos ao processo de saponificação e extração. Após este processo os

ácidos graxos extraídos foram dissolvidos em frascos contendo 5,0 ml de coquetel de cintilação tolueno-antarox 2:1 (v/v), PPO 0,01% e POPOP (0,26%), para a medida da radioatividade. Para determinar a porcentagem de  $^{14}\text{C}$ -lipídios absorvidos subtraiu-se o total de  $^{14}\text{C}$ -lipídios administrados presentes no trato gastrointestinal que não foram absorvidos. A partir do total de  $^{14}\text{C}$ -lipídios absorvidos a quantidade de radioatividade dos tecidos foi calculada. Os resultados foram expressos como porcentagem de  $^{14}\text{C}$ -lipídios absorvidos e acumulados por grama de tecido.

#### 4.6.5 Medida da área e diâmetro de células adiposas

Após a separação dos tecidos, aproximadamente 100mg dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal foram removidos de cada depósito de gordura e colocados em solução salina, lavar e remover as gorduras livres. Em seguida, para a determinação do tamanho das células adiposas os tecidos foram fixados em tampão colidina 0,2 M, contendo 2% de tetróxido de ósmium, em estufa à 37<sup>o</sup> C, por um período de aproximadamente 24 h. As células foram lavadas em solução salina morna e imediatamente retiradas e espalhadas em lâminas para posterior leitura/medida das áreas dos adipócitos. Este método foi previamente descrito por Hirsch e Gallian, 1968 e padronizado por Dâmaso (1996).

Para a leitura/medida referente às respectivas áreas das células adiposas, foi utilizado um software de análise de imagem (Leica Q 500 MC, *Leica Imaging Systems* Ltda, USA). Para a verificação de possíveis modificações na celularidade adiposa de ratos machos, decorrentes da modificação da dieta, foram medidas aproximadamente

50 áreas de adipócitos dos tecidos adiposos brancos (retroperitoneal e epididimal de cada animal).

Este procedimento permitiu uma observação constante da quantidade de células medidas, utilizando aproximadamente 300 áreas e diâmetros de adipócitos, em cada subgrupo de animais, por tecido. Os valores médios e os respectivos erros padrão foram expressos em  $\mu\text{m}^2$ .

## 5.0 ESTATISTICA

Foi realizada a análise de variância *Anova two-way*, seguida do teste de *Turkey Kramer* para a comparação dos efeitos dos diferentes tipos de dietas. Os resultados foram descritos considerando-se a média e o erro padrão,  $p \leq 0,05$ .

## 6.0 RESULTADOS

6.1 Efeitos do produto fermentado de soja sobre o peso corporal (g) e ingestão (g) alimentar em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

Observou-se que os ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica apresentaram maior ganho de peso corporal e maior ingestão alimentar quando comparados com os demais grupos (C, CPF e HPF). Os animais que receberam o produto fermentado associado com a dieta acrescida do colesterol ou a dieta controle apresentaram semelhanças na evolução do ganho de peso corporal e na ingestão alimentar em relação ao grupo que recebeu a dieta controle (Tabela 1 e Figuras 1 e 2).

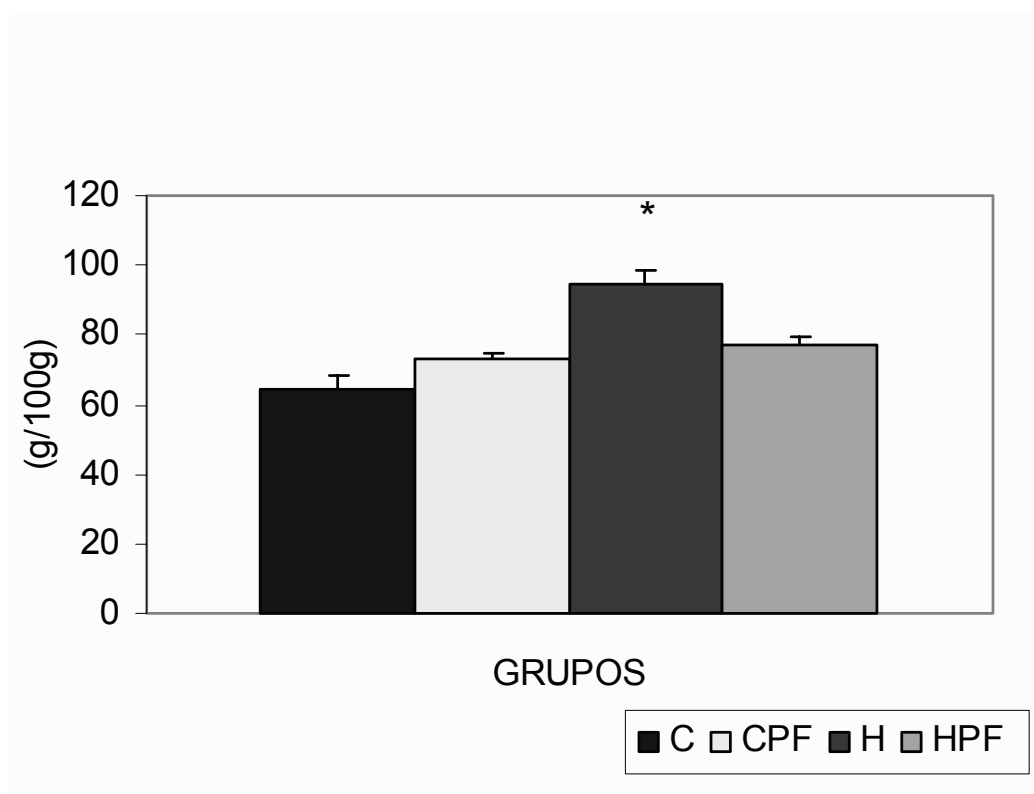
Tabela 1 - Porcentagem de ganho de peso corporal total (g) e ingestão alimentar total após oito semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

| GRUPOS     | GANHO DE PESO  | TOTAL DA INGESTÃO |
|------------|----------------|-------------------|
|            | CORPORAL (g)   | ALIMENTAR (g)     |
| C (n=16)   | 64.06 ± 4.18   | 1108 ± 55.04      |
| CPF (n=16) | 73.55 ± 1.99   | 1193 ± 21.84      |
| H (n=16)   | 94.86 ± 3.64 * | 1404 ± 33.6 *     |
| HPF (n=16) | 77.44 ± 2.26   | 1250 ± 34.50      |

Valores médios significativamente diferentes:

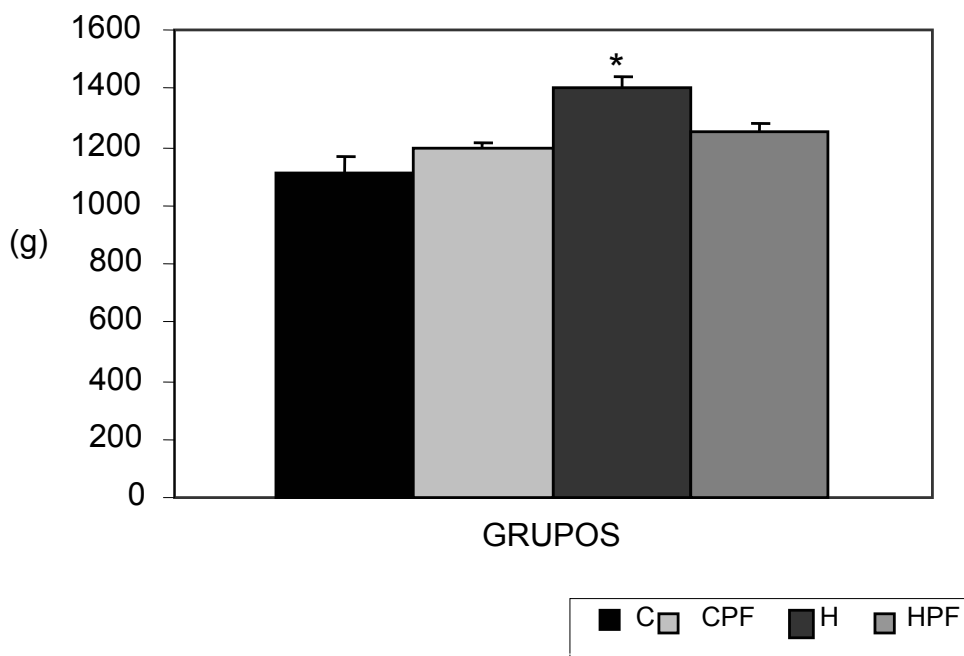
\* $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos demais grupos (C, CPF e HPF).





\*  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos demais grupos (C, CPF e HPF).

Figura 1 - Porcentagem de ganho de peso corporal (g) após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).



\*  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos demais grupos (C, CPF e HPF).

Figura 2 - Ingestão alimentar (g) após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

6.2 Efeitos do produto fermentado de soja sobre o peso dos tecidos (g) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

O grupo hipercolesterolêmico que recebeu o produto fermentado apresentou redução significativa no peso absoluto dos tecidos adiposos brancos epididimal e retroperitoneal em relação ao grupo H. Além disso, o grupo HPF apresentou maior peso do TAM quando comparado com o grupo CPF. Entretanto, o grupo HPF apresentou menor peso do tecido adiposo branco epididimal que o grupo CPF.

Observou-se ainda que o grupo H apresentou maior peso do tecido hepático do que o grupo C e CPF , assim como maior tecido muscular em relação ao grupo controle (Tabela 2).

Tabela 2 - Peso absoluto dos tecidos RET, EPI, FIG, GAST e TAM após 8 oitonas semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e no Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

| TECIDOS<br>(g/) | GRUPOS       |              |                           |                           |
|-----------------|--------------|--------------|---------------------------|---------------------------|
|                 | C (n=16)     | CPF (n=16)   | H (n=16)                  | HPF (n=16)                |
| RET             | 3.73 ± 0.29  | 4.28 ± 0.34  | 5.34 ± 0.76               | 3.55 ± 0,43 <sup>+</sup>  |
| EPI             | 3.20 ± 0.40  | 4.63 ± 0.33  | 4.17 ± 0.43               | 2.40 ± 0.14 <sup>**</sup> |
| FIG             | 11.56 ± 0.80 | 14.32 ± 0.39 | 19.08 ± 1.82 <sup>°</sup> | 16.37 ± 2.07              |
| TAM             | 0.23 ± 0.02  | 0.17 ± 0.01  | 0.23 ± 0.03               | 0.31 ± 0.02 <sup>*</sup>  |
| GAST            | 1.61 ± 0.03  | 1.92 ± 0.05  | 2.05±0.04 <sup>•</sup>    | 1.99 ± 0.08               |

Valores médios significativamente diferentes:

<sup>+</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo HPF ao grupo H.

<sup>\*</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo HPF ao grupo CPF.

<sup>°</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo H aos grupos C e CPF.

<sup>•</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo H ao grupo C.

---

6.3 Efeitos do produto fermentado de soja sobre o peso dos tecidos (g/100g do peso corporal) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

O grupo CPF apresentou menor peso do EPI do que o observado no grupo C, contudo maior peso em relação ao grupo HPF. O grupo H apresentou maior peso do EPI quando comparado com o grupo HPF, e menor peso deste mesmo tecido em relação o grupo C. Os grupos que receberam a dieta acrescida do colesterol associado ou não ao produto fermentado (H e HPF) apresentaram maior peso deste tecido quando comparado com os grupos C e CPF (Tabela 3). Não foram observadas alterações significativas nos valores obtidos do GAST, RET e do TAM.

Tabela 3 - Peso relativo dos tecidos (g/100g) dos tecidos RET, EPI, FIG, GAST e TAM após 8 oit o semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e no Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

| TECIDOS<br>(g/100g) | GRUPOS      |                          |                          |                          |
|---------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                     | C (n=16)    | CPF (n=16)               | H (n=16)                 | HPF (n=16)               |
| RET                 | 0.87 ± 0.06 | 1.02 ± 0.07              | 1.09 ± 0.17              | 0.88 ± 0,09              |
| EPI                 | 1.23 ± 0.05 | 1.01 ± 0.07 <sup>+</sup> | 0.90 ± 0.08 <sup>*</sup> | 0.66 ± 0.04              |
| FIG                 | 3.73 ± 0.07 | 3.43 ± 0.04              | 4.58 ± 0.08 <sup>*</sup> | 4.69 ± 0.01 <sup>°</sup> |
| TAM                 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01              | 0.06 ± 0.01              | 0.07 ± 0.01              |
| GAST                | 0.48 ± 0.01 | 0.46 ± 0.01              | 0.45 ± 0.01              | 0.49 ± 0.01              |

Valores médios significativamente diferentes:

<sup>+</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo CPF aos grupos C e HPF.

<sup>\*</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo H aos grupos C e HPF.

<sup>•</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo H aos grupos C e CPF.

<sup>°</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo HPF aos grupos C e CPF.

6.4 Efeitos do produto fermentado de soja sobre a porcentagem de absorção e captação de  $^{14}\text{C}$ -trioleína (expressos como porcentagem de  $^{14}\text{C}$ -lipídios absorvidos e acumulados por grama de tecido) nos tecidos em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

Foi observado que o grupo que recebeu a dieta hipercolesterolêmica associada ao produto fermentado apresentou maior porcentagem de absorção e captação acumulo de  $^{14}\text{C}$  trioléina da dieta/g nos tecidos RET, EPI e FIG em relação aos demais grupos estudados. Não existiram diferenças entre os grupos C, CPF e H, na situação experimental e nos tecidos acima citados. Ainda verificou-se que o grupo alimentado com dieta hipercolesterolêmica apresentou menor porcentagem de absorção e captação de  $^{14}\text{C}$  trioléina no GAST quando comparada com os demais (Tabela 4 e Figura 3).

Tabela 4 - Porcentagem de absorção e captação de  $^{14}\text{C}$ -trioleína (porcentagem de  $^{14}\text{C}$ -trioleína absorvida e acumulada/grama de tecido) dos tecidos RET, EPI, FIG, GAST e TAM após 8 semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

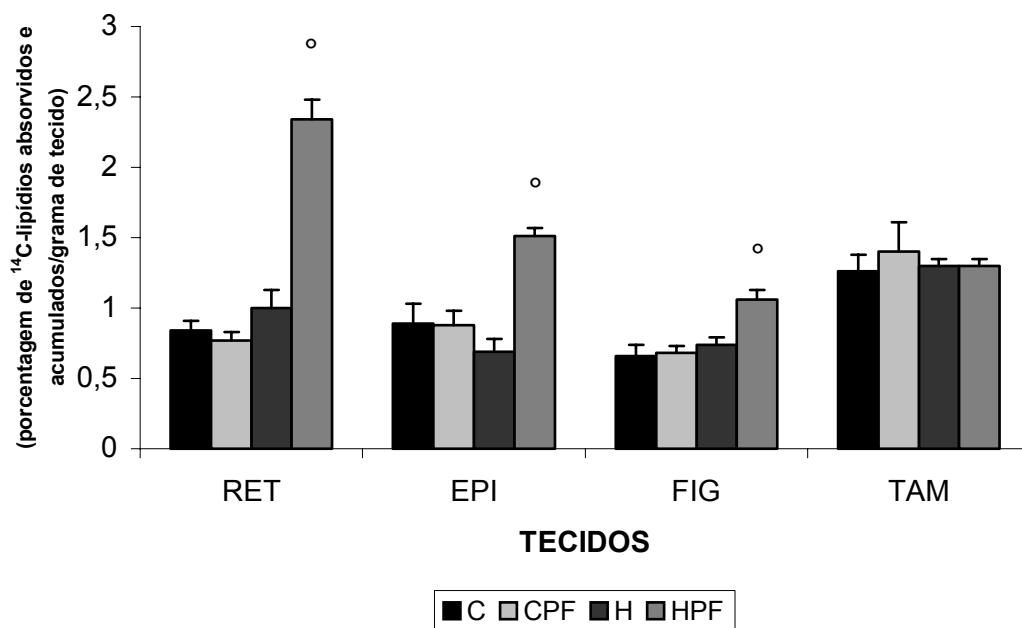
| TECIDOS | GRUPOS          |                 |                   |                   |
|---------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|
|         | C (n=8)         | CPF (n=8)       | H (n=8)           | HPF (n=8)         |
| RET     | $0.84 \pm 0.07$ | $0.77 \pm 0.06$ | $1.00 \pm 0.13$   | $2.34 \pm 0.14$ ° |
| EPI     | $0.89 \pm 0.14$ | $0.88 \pm 0.10$ | $0.69 \pm 0.09$   | $1.51 \pm 0.06$ ° |
| FIG     | $0.66 \pm 0.08$ | $0.68 \pm 0.05$ | $0.74 \pm 0.05$   | $1.06 \pm 0.07$ ° |
| TAM     | $1.26 \pm 0.12$ | $1.40 \pm 0.21$ | $1.30 \pm 0.05$   | $1.30 \pm 0.05$   |
| GAST    | $0.21 \pm 0.01$ | $0.30 \pm 0.02$ | $0.19 \pm 0.01$ + | $0.23 \pm 0.01$   |

Valores médios significativamente diferentes:

°  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo HPF aos demais grupos.

+  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos demais grupos.





<sup>o</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo HPF aos demais grupos

Figura 3 - Porcentagem de absorção e captação de  $^{14}\text{C}$ -trioleína nos tecidos (porcentagem de  $^{14}\text{C}$ -lipídios absorvidos e acumulados/grama de tecido) dos tecidos RET, EPI, FIG e TAM após oito semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

6.5 Efeitos do produto fermentado de soja sobre a taxa de lipogênese “in vivo” ( $\mu$  mol de  $^3\text{H}_2\text{O}$  incorporada em lipídios/g de tecido.h) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

O grupo CPF apresentou menor síntese lipídica no RET quando comparada com os grupos C e H. Neste mesmo tecido o grupo H apresentou maior síntese lipídica quando comparado com o grupo CPF e HPF, contudo não foi diferente do grupo controle. Observou-se ainda o grupo CPF apresentou menor síntese lipídica no EPI quando comparados com demais grupos. Foi verificado que o grupo H apresentou maior síntese lipídica no EPI, FIG, TAM e GAST quando comparado com os demais grupos. O grupo HPF não apresentou diferenças na síntese lipídica do TAM e FIG quando comparado com os grupos C e CPF (Tabela 5 e Figura 4).

Tabela 5 - Taxa de lipogênese “in vivo” ( $\mu$  mol de  $^3\text{H}_2\text{O}$  incorporada em lipídios/g de tecido.h) dos tecidos RET, EPI, FIG, GAST e TAM após 8 semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e no Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

| TECIDOS | GRUPOS          |                              |                              |                 |
|---------|-----------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|
|         | C (n=8)         | CPF (n=8)                    | H (n=8)                      | HPF (n=8)       |
| RET     | 1.34 $\pm$ 0.29 | 0.29 $\pm$ 0.03 *            | 1.26 $\pm$ 0.11 <sup>+</sup> | 0.52 $\pm$ 0.03 |
| EPI     | 0.59 $\pm$ 0.11 | 0.14 $\pm$ 0.01 <sup>o</sup> | 1.30 $\pm$ 0.20 <sup>#</sup> | 0.33 $\pm$ 0.05 |
| FIG     | 0.50 $\pm$ 0.10 | 0.61 $\pm$ 0.04              | 2.94 $\pm$ 0.37 <sup>#</sup> | 0.52 $\pm$ 0.03 |
| TAM     | 0.99 $\pm$ 0.22 | 1.49 $\pm$ 0.22              | 6.54 $\pm$ 0.48 <sup>#</sup> | 1.03 $\pm$ 0.29 |
| GAST    | 0.11 $\pm$ 0.01 | 0.10 $\pm$ 0.07              | 0.83 $\pm$ 0.08 <sup>#</sup> | 0.08 $\pm$ 0.00 |

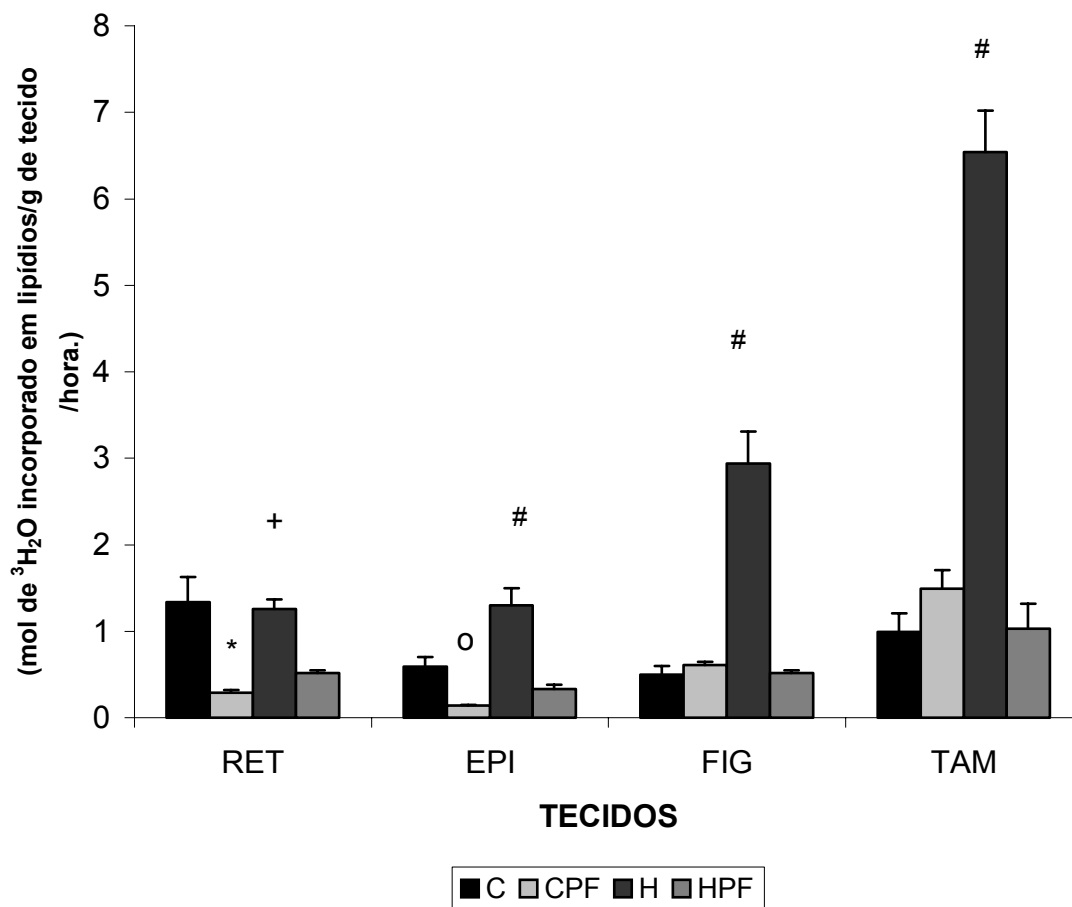
Valores médios significativamente diferentes:

\*  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo CPF aos grupos C e H.

<sup>+</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos grupos CPF e HPF.

<sup>o</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo CPF aos demais grupos.

<sup>#</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos demais grupos.



\*  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo CPF aos grupos C e H.

+  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos grupos CPF e HPF.

°  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo CPF aos demais grupos.

#  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos demais grupos.

Figura 4 - Taxa de lipogênese ( $\mu\text{mol}$  de  $^3\text{H}_2\text{O}$  incorporado em lipídios/g de tecido /hora.) dos tecidos RET, EPI, FIG, GAST e TAM, após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

6.6 Efeitos do produto fermentado de soja sobre o conteúdo de gordura (g/100g de tecido) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

Foi verificado que o grupo controle apresentou maior conteúdo de gordura no EPI, RET e GAST quando comparado com os demais grupos estudados. Além disso foi o grupo que recebeu a dieta enriquecida com colesterol (H), apresentou menor conteúdo de gordura no RET que os grupos CPF e C. Os grupos que receberam a dieta acrescida do colesterol associado ou não ao produto fermentado (H e HPF) apresentaram maior conteúdo de gordura no FIG quando foram comparados com o grupo controle e o grupo controle associado ao produto fermentado. Ainda foi observado que o CPF apresentou menor conteúdo de gordura no fígado quando comparado com os demais grupos (Tabela 6 e Figura 5). O conteúdo de gordura no TAM menor no grupo que recebeu a dieta acrescida de colesterol quando comparado com os demais grupos (C, CPF e HPF).

Tabela 6 - Conteúdo de gordura (g/100g) dos tecidos RET, EPI, FIG, GAST e TAM após 8 semanas de tratamento (g) no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e no Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

| TECIDOS<br>(g/100g) | GRUPOS                     |                        |                           |                        |
|---------------------|----------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|
|                     | C (n=8)                    | CPF (n=8)              | H (n=8)                   | HPF (n=8)              |
| RET                 | 102.85 ± 4.26 <sup>#</sup> | 89.53 ± 1.04           | 76.18 ± 1.64 <sup>*</sup> | 80.26 ± 3.27           |
| EPI                 | 105.50±3.18 <sup>#</sup>   | 84.26±0.93             | 78.92±1.33                | 80.09±2.56             |
| FIG                 | 3.51±0.67                  | 2.16±0.17 <sup>+</sup> | 6.81±0.26 <sup>*</sup>    | 7.28±0.19 <sup>0</sup> |
| TAM                 | 53.39±3.51                 | 53.38±3.51             | 36.75±3.51 <sup>•</sup>   | 54.32±4.04             |
| GAST                | 1.77±0.49 <sup>#</sup>     | 1.20±0.11              | 0.63±0.09                 | 0.94±0.2               |

Valores médios significativamente diferentes:

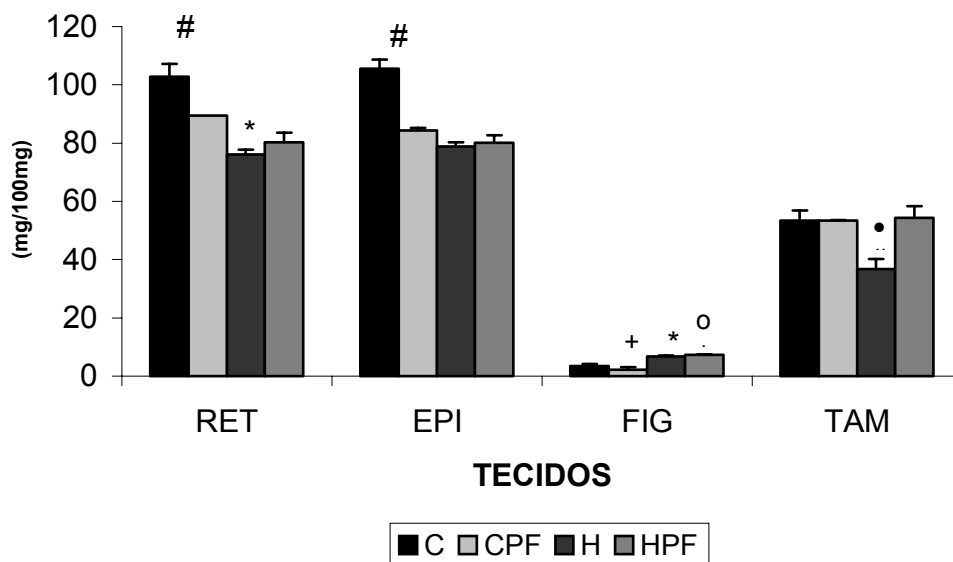
<sup>#</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo C aos demais grupos.

<sup>\*</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo H aos grupos C e CPF.

<sup>0</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo HPF aos grupos C e CPF.

<sup>+</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo CPF aos demais grupos

<sup>•</sup> p ≤ 0.05 comparando-se o grupo H aos demais grupos.



#  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo C aos demais grupos.

\*  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos grupos C e CPF.

<sup>0</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo HPF aos grupos C e CPF.

<sup>+</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo CPF aos demais grupos

<sup>•</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos demais grupos.

Figura 5- Conteúdo de gordura (mg/100mg) dos tecidos RET, EPI, FIG, e TAM após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF). mg/100mg de tecido.

---

6.7 Efeitos do produto fermentado de soja sobre a taxa de lipólise (em  $\mu\text{mol}$  de glicerol liberado por hora por 100 mg de tecido) nos tecidos RET e EPI em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

A taxa de lipólise basal no RET e EPI do grupo HPF foi maior quando comparada com os demais grupos estudados (C, CPF e H). Entre os grupos C, CPF e H não houve diferenças significativas (Tabela 7 e Figura 6 ).

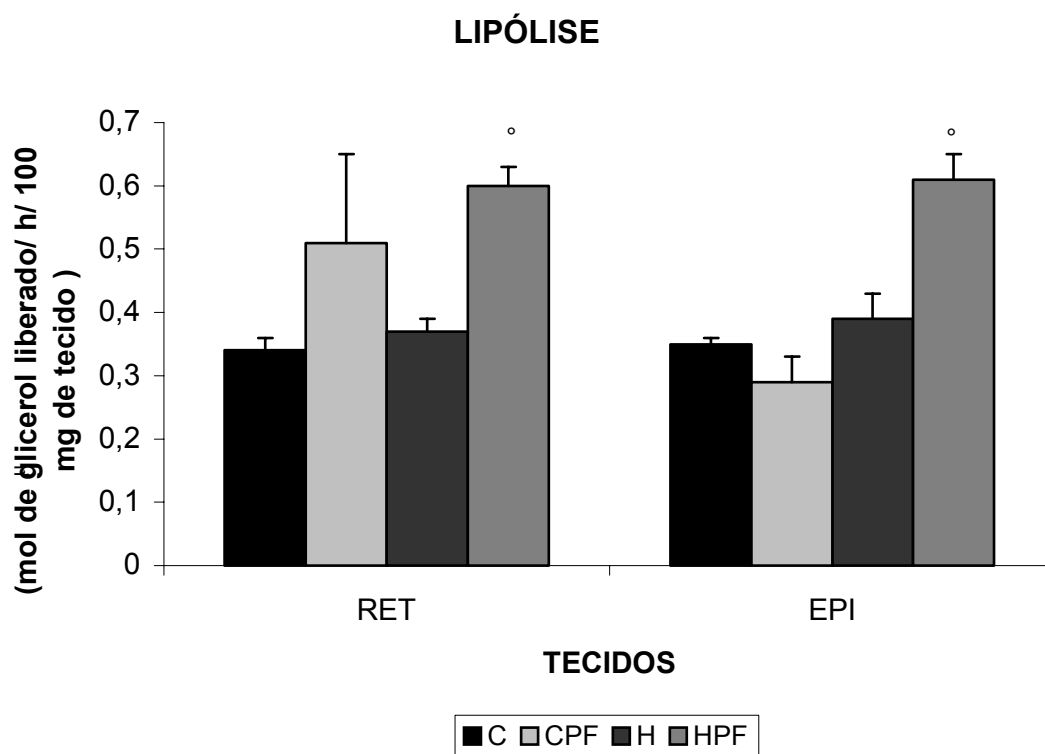


Tabela 7 - Taxa de lipólise ( $\mu\text{mol}$  de glicerol liberado/ h/ 100 mg de tecido ) nos tecidos RET e EPI durante oito semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

| GRUPOS   | TECIDOS           |                   |
|----------|-------------------|-------------------|
|          | RET               | EPI               |
| C (n=8)  | $0.34 \pm 0.02$   | $0.36 \pm 0.01$   |
| CPF(n=8) | $0.51 \pm 0.14$   | $0.29 \pm 0.04$   |
| H (n=8)  | $0.37 \pm 0.02$   | $0.39 \pm 0.41$   |
| HPF(n=8) | $0.60 \pm 0.03$ ° | $0.61 \pm 0.04$ ° |

Valores médios significativamente diferentes:

°  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo HPF aos demais grupos.



°  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo HPF aos demais grupos.

Figura 6 - Taxa de lipólise ( $\mu\text{mol}$  de glicerol liberado/ h/ 100 mg de tecido) nos tecidos RET e EPI, após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

---

6.8 Efeitos do produto fermentado de soja sobre a área (A) e diâmetro (D) dos adipócitos ( $\mu\text{m}^2$ ), nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

Os animais que receberam a dieta hipercolesterolêmica apresentaram maior área e o diâmetro dos adipócitos no RET quando relacionados aos demais grupos. Entretanto o grupo que recebeu a dieta padrão associado ao produto fermentado apresentou menor área e diâmetro dos adipócitos nos dois tecidos acima analisados, quando comparado com os grupos C e H. Observou-se ainda que o grupo hipercolesterolêmico apresentou-se com maior área de tecido adiposo branco epididimal que o grupo CPF e o grupo HPF. Além disso o grupo HPF apresentou menor área do EPI e menor diâmetro do RET e EPI quando foi comparado com o grupo H e C.

Tabela 8 - Efeitos do produto fermentado de soja sobre a área (A) e diâmetro (D) dos adipócitos ( $\mu\text{m}$ ) nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI) durante oito semanas de tratamento no Grupo Controle (C); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (CPF); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (H); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (HPF).

| TECIDOS                     | GRUPOS             |                      |                                 |                     |
|-----------------------------|--------------------|----------------------|---------------------------------|---------------------|
|                             | C (n=16)           | CPF (n=16)           | H (n=16)                        | HPF (n=16)          |
| RET (A) ( $\mu\text{m}^2$ ) | 14619 $\pm$ 591.47 | 12167 $\pm$ 351.99 * | 17058 $\pm$ 565.45 <sup>+</sup> | 11551 $\pm$ 395.11  |
| EPI (A) ( $\mu\text{m}^2$ ) | 14809 $\pm$ 652.37 | 10422 $\pm$ 263.95 * | 13059 $\pm$ 385.89 <sup>0</sup> | 8695 $\pm$ 241.91 # |
| RET (D) ( $\mu\text{m}^2$ ) | 127.35 $\pm$ 2.49  | 118.06 $\pm$ 1.75 *  | 138.59 $\pm$ 2.37 <sup>+</sup>  | 113.49 $\pm$ 2.03 # |
| EPI (D) ( $\mu\text{m}^2$ ) | 128.25 $\pm$ 2.05  | 110.13 $\pm$ 1.42 *  | 122.69 $\pm$ 1.73               | 100.12 $\pm$ 1.42 # |

Valores médios significativamente diferentes:

<sup>+</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos demais grupos.

\*  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo CPF aos grupos C e H.

<sup>0</sup>  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo H aos grupos CPF e HPF.

#  $p \leq 0.05$  comparando-se o grupo HPF aos grupos H e C.

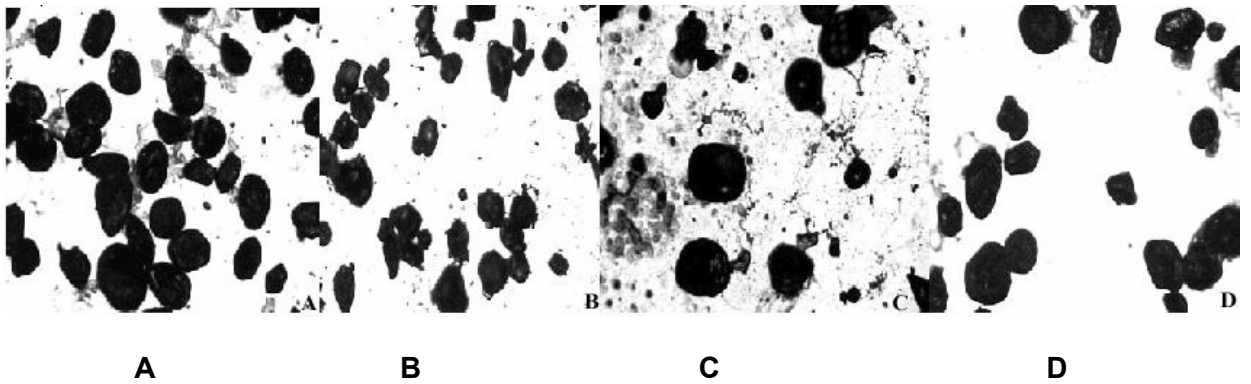


Figura 7 - Area ( $\mu\text{m}^2$ ) e diâmetro ( $\mu\text{m}$ ) dos adipócitos do tecido adiposo branco retroperitoneal (RET), após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (A); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (B); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (C); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (D).

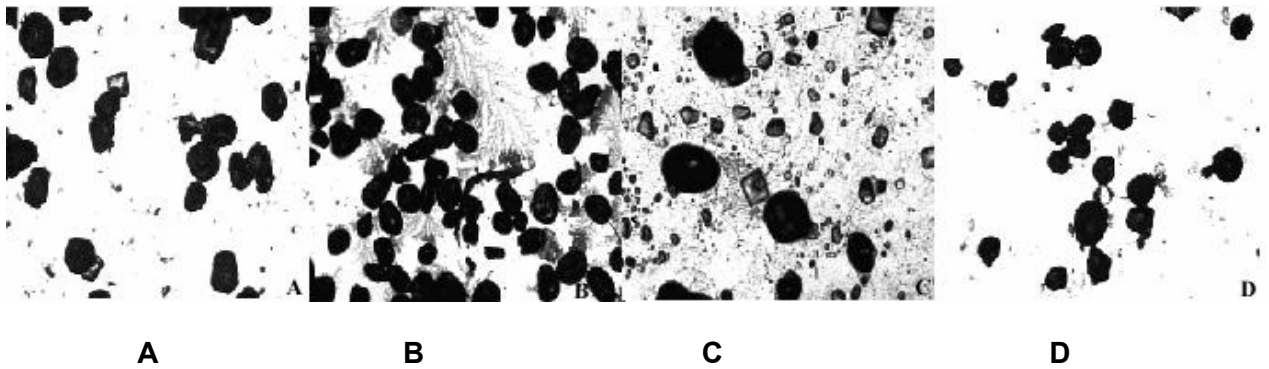


Figura 8 - Area ( $\mu\text{m}^2$ ) e diâmetro ( $\mu\text{m}$ ) dos adipócitos do tecido adiposo branco epididimal (EPI), após 8 semanas de tratamento no Grupo Controle (A); Grupo Controle associado ao Produto Fermentado (B); Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol (C); e Grupo que recebeu a uma dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado (D).

## 7.0 DISCUSSÃO

Nos últimos anos a prevenção das doenças cardiovasculares, dislipidemias, obesidade, derrame cerebral e diabetes têm se tornado alvo de discussões e estudo, uma vez que o número destas patologias tem crescido demasiadamente (RAGLAND et al., 1998; KAMASE et al., 1999). Evidências demonstram a íntima associação dessas patologias a fatores comportamentais, ambientais e genéticos. Em relação aos fatores comportamentais o excesso de dietas com alto teor de lipídios e o declínio da atividade física destaca-se entre os demais e são considerados como os principais elementos desencadeantes da obesidade (JÉQUIER, 2002).

A obesidade é acompanhada por anormalidades metabólicas que frequentemente culminam na insulino resistência e na expressão do diabetes tipo 2. A insulino resistência esta comumente relacionada com a obesidade, hipertensão e as doenças cardiovasculares. As modificações metabólicas podem ser causa ou consequência da insulino resistência e incluem a hiperglicemia, hiperfagia, hipercorticosterolemia e hiperinsulinemia (ABADIE et al., 2001).

Segundo Cummings (1991) o cólon é o órgão metabolicamente mais ativo do corpo humano, isto se explica pela presença em seu lúmen da flora bacteriana residente, formada por  $10^{12}$  células por grama de conteúdo intestinal. Por razões pertinentes, sabe-se que o balanço da microflora intestinal promove benefícios, aprimorando a saúde dos indivíduos (GIBSON e COLLINS, 1998). Neste contexto, indústrias, acadêmicos, pesquisadores e profissionais de saúde têm pesquisado e

elaborado novos produtos alimentares, que atuam na flora intestinal, com finalidade profilática e preventiva.

Vale ressaltar que entre os diferentes produtos estudados na atualidade, os probióticos, prebióticos ou os simbióticos são interessantes suplementos alimentares e se destacam por aumentar o número e a atividade da microflora intestinal residente (SCHREZENMEIR E VRESE, 2001).

Segundo Fuller (1989) o probiótico é um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta de forma benéfica o animal hospedeiro através da melhoria do balanço microbiano intestinal. Esta definição engloba tanto os iogurtes tradicionais fermentados pelo *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgarius* e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, como os preparados comerciais elaborados especificamente como probióticos que contém isolados intestinais de lactobacilos, estreptococos e bifidobactérias. Estudos recentes têm evidenciado que estes preparados podem modular a microflora intestinal. Já foi demonstrado que os probióticos agem sobre a composição e metabolismo da flora residente. Todavia, é sabido que a relação entre os efeitos dos microorganismos e a saúde do hospedeiro não está tão clara, necessitando desta forma novos estudos, visando pesquisar as múltiplas ações destes (GIBSON e COLLINS, 1998) .

Os prebióticos são definidos como ingredientes não digeríveis dos alimentos (ex. oligossacarídeos) que afetam o hospedeiro modificando seletivamente o crescimento e/ou a atividade de uma ou de um número de bactérias no cólon tenso, com potencialidade para aprimorar a saúde do hospedeiro (GIBSON e ROBERFROID, 1995).



Roberfroid (1999) relatou que os simbióticos (associação de um prebiótico com um probiótico) acarretam em efeitos positivos tanto na fisiologia gastrointestinal, nas funções imunes e biodisponibilidade de minerais, como num âmbito sistêmico, no metabolismo dos lípidios e dos xenobióticos. Os benefícios potenciais para a saúde encontram-se na prevenção de doenças infecciosas, na estimulação do sistema imune, na melhoria da biodisponibilidade dos nutrientes, na prevenção dos efeitos tóxicos, das doenças cardiovasculares, diabetes mellitus não insulino dependente, obesidade, osteoporose, hipertensão e câncer.

Inúmeros trabalhos tanto em humanos como em animais têm relatado à importância do uso dos probióticos e ou prebióticos na manutenção de valores aceitáveis do colesterol total, na diminuição dos triglicerídeos circulantes e na hipertensão arterial, prevenindo ou minimizando os riscos para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares (GILLILAND et al., 1985; AGERBAEK et al., 1995; HOSONO et al., 1995; GOPAL et al., 1996; NAGATA et al., 1998; TARANTO et al., 1999; KAWASE et al., 1999; TAKATSUKA et al., 2000, STANTON et al., 2001; CHEN et al., 2002 ).

Por outro lado, é quase inexistente na literatura pesquisas que visam entender os efeitos destes suplementos alimentares sobre o metabolismo lipídico, mais especificamente sobre a lipólise, lipogênese e captação dos lipídios da dieta, assim como sobre a adiposidade central.

Com base nessas premissas, foi desenvolvida a pesquisa atual com a finalidade de investigar os efeitos de um novo produto fermentado de soja (simbiótico) sobre a lipogênese, lipólise e captação dos lipídios da dieta, assim como sobre adiposidade em

ratos adultos alimentados com dieta padrão; dieta padrão associada ao produto fermentado de soja, dieta hipercolesterolêmica associada ao produto fermentado de soja e dieta hipercolesterolêmica.

Na discussão que se segue dos resultados apresentados serão inicialmente analisados o peso corporal e a ingestão alimentar, os tecidos adiposos brancos retroperitoneal e epididimal, o fígado, o tecido adiposo marrom, o músculo gastrocnêmio e posteriormente as considerações finais.

7.1 Efeito do produto fermentado de soja sobre o peso corporal e ingestão alimentar em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

Em relação ao peso corporal observou-se que os ratos submetidos a dieta enriquecida com o colesterol associada ao produto fermentado apresentaram menor evolução no ganho de peso corporal e ingestão alimentar quando comparados com os grupos de animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica (Tabela 1 e Figuras 1 e 2) . Estes resultados estão compatíveis com os observados por Chen et al. (2002), que verificaram os efeitos de uma fração peptídica indigesta da hidrólise da proteína da soja (UDSP) sobre o metabolismo lipídico de ratos alimentados com dieta enriquecida de colesterol. Estes autores relataram que os ratos alimentados com 15% de caseína associado com 5% de UDSP apresentaram diminuição no peso corporal e VLDL-c, quando comparado com o grupo alimentado com 18% de caseína associado com 2% de UDSP. Posteriormente concluíram que o grupo que recebeu a soja em maiores

proporções, apresentou menor peso corporal, mesmo quando submetido a uma dieta com alto teor de colesterol.

Investigações anteriores realizadas por Volgarev et al. (1989) evidenciaram inclusive a importância da soja sobre o controle de peso corporal em humanos. Segundo os pesquisadores, tanto os indivíduos obesos hipercolesterolêmicos como os obesos normocolesterolêmicos apresentaram redução do peso corporal quando ingeriram a proteína da soja.

Ainda em relação à evolução do peso corporal, foi verificado que o grupo controle que recebeu o produto fermentado de soja teve menor ganho de peso corporal e ingestão alimentar durante o período experimental quando comparado com o grupo que recebeu a dieta acrescida de colesterol (Tabela 1 e Figuras 1 e 2).

Os dados obtidos concordam parcialmente com os resultados observados por Mandini et al. (2000 a). Naquele trabalho os animais alimentados com 20% de proteína de soja apresentaram redução no ganho de peso corporal e menor LDL-c e VLDL-c, quando comparado com o grupo alimentado com 20% de caseína, mas similar ingestão alimentar. Da mesma forma, Aoyama et al. (2000) relataram que a proteína da soja isolada (SPI) e da proteína da soja hidrolisada (SPI-H) causou redução tanto do peso como no conteúdo de gordura corporal, em ratos geneticamente obesos, sem afetar o conteúdo de proteína corporal. Sendo assim, a partir dos trabalhos anteriormente citados, torna-se evidente a importância da proteína da soja no controle do peso corporal e nos níveis lipídicos.

Todavia os resultados obtidos no presente trabalho possivelmente não se devem exclusivamente a proteína da soja, mas também deve-se considerar à presença das

bactérias contidas no produto fermentado: o *Enterococcus Faecium* (superior a  $10^6$  ufc/ml).

Além disso, os achados do presente trabalho merecem destaque, uma vez que o aumento do peso corporal é um dos fatores determinantes para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, principal causa de morte no Brasil derivada da obesidade, hipertensão, diabetes e tabagismo (LOTUFO, 2000). Desta forma, para cada quilograma de peso adquirido a pressão arterial sistólica se eleva em 1mmHg. Caso o excesso de peso seja 20% acima do ideal, a incidência para o desenvolvimento da hipertensão aumenta em até 8x (DÉSPRES, 1999).

Sabe-se que as dietas protéicas de origem animal podem aumentar a sensação de saciedade comparando-se com outros tipos de dietas. De forma similar, dietas ricas em leguminosas, como a soja, além de promoverem a saciedade, modificam as secreções de insulina e colecistoquinina, contribuindo para a perda de peso (ANDERSON et al., 1999).

No atual trabalho observou-se que os animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica, sem o produto fermentado de soja, apresentaram maior ingestão alimentar do que os demais grupos. Dumesnil et al. (2001) demonstraram que dietas com baixo teor de gordura e alto teor de proteína podem diminuir em até 25 % da energia ingerida. Os resultados citados por estes autores confirmam parcialmente os resultados obtidos neste trabalho, uma vez que os animais que ingeriram o produto fermentado de soja associado à dieta hipercolesterolêmica (HPF) apresentaram uma redução de 11% na ingestão alimentar quando comparado com os animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica (H).

Chen et al. (2002) verificaram que ratos alimentados com proteína da soja hidrolisada (5%) associada a caseína (15%) apresentaram menor ganho de peso corporal quando comparado ao grupo controle, na ausência do colesterol. Os resultados obtidos por estes autores são conflitantes quando comparamos os dados obtidos no presente trabalho, onde os animais do grupo C tiveram o mesmo ganho de peso corporal e ingestão quando comparado com os grupos que receberam o produto fermentado de soja, sejam estes hipercolesterolêmicos (HPF) ou alimentado com dieta controle (CPF).

Vários estudos realizados em humanos e em animais obesos têm sugerido que a soja tem significativo efeito antiobesidade. Desta forma Jenkins et al. (1989) verificaram que indivíduos obesos que consumiram dietas com baixo teor calórico associado à proteína da soja, apresentaram diminuição do peso corporal, ao comparar com os indivíduos que consumiram a dieta com caseína (também com baixo teor calórico). Fisler et al. (1985) estudaram os efeitos de duas dietas proteicas, com baixo teor calórico, uma dieta contendo soja e outra colágeno, segundo os autores a proteína da soja foi mais efetiva em manter os aminoácidos essenciais plasmáticos do que a dieta com a proteína colagenosa. Estes achados sugerem que a substituição da proteína animal pela vegetal, pode promover benefícios adicionais para a redução de peso em indivíduos obesos.

Em recente estudo realizado por Allison et al. (2003), obesos que receberam dieta com um novo produto de soja (n:50, 240g/dia, 1200 kcal /dia) com baixo teor calórico por período de 12 semanas, apresentaram redução de peso e LDL colesterol maior do que o grupo controle. Os autores concluíram que este novo produto pode ser

efetivo na redução do peso e massa corporal total, assim como do colesterol, podendo ainda ser um possível produto coadjuvante no tratamento de indivíduos obesos. Entretanto Bosello et al. (1998) avaliaram o efeito de diferentes dietas de proteína em 24 adultos com obesidade (60% acima do peso corporal ideal). Neste estudo, tanto os indivíduos com a dieta de soja como os que ingeriram a dieta de caseína, receberam 375 kcal/d, por um período de 15 dias e 425 kcal/d por 60 dias. Todos os indivíduos perderam peso, sendo similar para ambos, contudo a redução do colesterol total, LDL colesterol, VLDL colesterol e triacilglicerol foi maior para o grupo alimentado com a soja. Ainda Yamashita et al. (1998) não observaram redução de peso em mulheres obesas que receberam dietas com baixo teor calórico, contudo diferentes dietas protéicas: carne bovina ou soja.

Analisando os resultados e discussões apresentadas, vale lembrar que as principais dificuldades para o entendimento dos benefícios da soja se devem as diversas formas de processamento em que é submetida, por exemplo: proteína concentrada, proteína texturizada, proteína isolada, óleo, leite e produtos fermentados de soja entre outras, ou ainda como foi cultivada (FARMAKALIDIS et al., 1985; STECHELL, 1997). Sendo assim, pode-se sugerir que os resultados obtidos nas citações anteriores ou ainda no presente trabalho sejam decorrentes do modo com que à soja foi extraída e manipulada, da dose e duração do consumo.

Os animais que receberam a dieta enriquecida de colesterol associado ao produto fermentado de soja apresentaram maior aumento na captação dos lipídios da dieta nos tecidos RET, EPI e FIG em relação aos demais grupos (Tabela 4 e Figura 3).

Os resultados obtidos no presente trabalho estão parcialmente de acordo com os observados por Gaiva et al. (2001), no qual ratos alimentados com dieta rica em óleo de soja apresentaram aumento na taxa de acúmulo de lipídios nos tecidos adiposos RET e EPI, quando comparado com o grupo controle normocalórico. Entretanto, no atual trabalho não existiram diferenças na captação de lipídios quando foram comparados os grupos CPF ao grupo C.

Não pode ser desconsiderado que a captação dos lipídios da dieta é outro fator que poderia estar contribuindo para prolongar o estado de saciedade destes animais. Assim, sugere-se que o produto fermentado promove modificações no padrão alimentar, resultando em menor ganho de peso corporal.

7.2 Efeito do produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal e epididimal em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

O grupo que recebeu o produto fermentado associado a uma dieta enriquecida de colesterol apresentou diminuição no peso absoluto do RET, redução de 58.73% na síntese lipídica quando comparado com o grupo H. Além disso o grupo HPF apresentou redução de 21.96% no conteúdo de gordura comparando-se ao grupo C. Vale destacar ainda que a taxa de lipólise do grupo HPF foi maior 43.33% ; 16.66% e

38.33 % quando comparados com os grupos C, CPF e H respectivamente (Tabelas 2, 5, 6 e 7; e Figuras 4, 5, 6).

De forma semelhante, o grupo que recebeu o produto fermentado associado à dieta padrão apresentou redução de 12.95% no conteúdo de gordura, e 78.35 % na síntese lipídica que em relação ao grupo C, e maior conteúdo de gordura que o grupo H, contudo a síntese lipídica foi maior no grupo H, quando comparado ao grupo CPF. Foi observado ainda que a lipólise do grupo CPF não foi diferente dos grupos C e H (Tabelas 5, 6 e 7; Figuras 4, 5 e 6).

Tendo em vista, que o produto fermentado de soja contribuiu para menor síntese lipídica e conteúdo de gordura no tecido adiposo retroperitoneal, torna-se interessante destacar que este produto associado à dieta enriquecida de colesterol, foi mais eficiente em promover modificações no metabolismo lipídico, do que quando os animais foram submetidos ao produto fermentado de soja associado a dieta padrão, fato este observado em nas porcentagens acima descritas. Principalmente em relação lipólise, que foi maior, refletindo inclusive no menor ganho de peso deste tecido.

Contrariamente aos resultados obtidos no atual trabalho Gaiva et al. (2001), verificaram que o peso e a porcentagem de acúmulo de lipídios no tecido adiposo retroperitoneal foi maior nos grupos alimentados com óleo de soja quando comparado com o grupo controle. Segundo os autores a lipogênese do EPI apresentou-se maior em todos os grupos que foram alimentados com a dieta enriquecida com óleo, tanto de soja como de peixe.

Contudo Agheli et al (1998) estudaram os efeitos de uma dieta contendo frutooligossacarídeos (FOS) sobre a síntese lipídica em ratos. Segundo os autores



acima citados, os animais foram alimentados com uma dieta de sacarose (S) por 3 semanas e posteriormente submetidos a uma dieta de FOS (prebiótico). Estes verificaram tendência à redução no peso no tecido adiposo branco retroperitoneal, da glicose e dos triglicérides plasmáticos. Ainda foi observado, após a introdução da dieta de FOS normalização na atividade das enzimas lipogênicas no fígado, que haviam aumentado após a administração da sacarose. Os autores concluíram que os prebióticos podem ser interessantes coadjuvantes no tratamento de diversos quadros patológicos como por exemplo do diabetes e das hiperlipidemias.

Vários outros autores tem pesquisado os efeitos da genisteína sobre o metabolismo lipídico. Especificamente Mackowiak et al. (1999), relataram que a genisteína pode diminuir o número de receptores de alta afinidade com a insulina em ratas ovariectomizadas.

No atual trabalho não foram realizadas as análises referentes as concentrações de insulina e glicose plasmática, contudo é sabido que as concentrações de insulina interferem diretamente sobre a lipogênese em diversos tecidos, quando em excesso aumenta a atividade das enzimas lipogênicas no fígado, no tecido adiposo e tecido muscular. Entretanto, inibe a produção de glicose e glucagon pelo fígado, a lipólise nos tecidos adiposos, assim como a proteólise e liberação de aminoácidos pelos tecidos musculares (BRAY, 1994).

Ainda Persuade et al. (1999) relataram que após a incubação de células adiposas isoladas o aumento de diferentes doses de genisteína (0.01, 0.3 e 0.6) resultou em inibição da conversão da glicose para os lipídios totais na presença ou na ausência da insulina. Similar efeito antilipogênico foi observado em adipócitos quando o acetado foi

usado como substrato. Em experimentos similares a genisteína (0.1 e 1 mmol/L) aumentou a lipólise basal nos tecidos adiposos, e até em concentrações menores (0.01) a lipólise aumentou, quando estimulada pela epinefrina. Ainda em células isoladas de adipócitos a genisteína diminuiu a síntese lipídica e a glicose estimulada pela insulina (ABLER et al., 1992).

Analisando-se ainda os resultados, o grupo que recebeu o produto fermentado associado à dieta enriquecida com colesterol apresentou redução de 26.66% e 34.65% no peso relativo, quando comparado com os grupos H e CPF respectivamente. Ainda foi observado redução de 74.61% na síntese lipídica do tecido adiposo branco epididimal, quando comparada com o grupo H. Além disso, foi observado que o grupo HPF apresentou menor peso absoluto deste mesmo tecido, quando comparado ao grupo H. Em relação à lipólise resultados semelhantes aos obtidos no RET também ocorreram no EPI quando foram comparados o grupo HPF aos demais grupos. Sendo assim a taxa de lipólise do grupo HPF foi maior 40.98%, 52.45% e 36.06% quando comparada com os grupos C, CPF e H respectivamente (Tabelas 2, 3, 5, 6 e 7; e Figuras 4, 5).

O produto fermentado de soja no grupo submetido à dieta padrão acarretou em redução 76.27% na síntese lipídica do tecido adiposo branco epididimal, refletindo na diminuição do peso relativo cerca de 17.88%, quando comparado ao grupo C. O grupo hipercolesterolêmico apresentou menor conteúdo de gordura, entretanto a síntese lipídica foi 89.23% maior, quando comparada com o grupo CPF, não se observando alterações no peso deste mesmo tecido (Tabelas 3, 5, 6 e 7; e Figuras 4, 5 e 6).

Tendo em vista os resultados obtidos pode-se reportar que o produto fermentado acarretou uma série de modificações no metabolismo lipídico nos tecidos adiposos brancos estudados em ratos submetidos ou não uma dieta rica em colesterol. O produto fermentado de soja, quando administrado em ratos submetidos à dieta hipercolesterolêmica, alterou os processos de síntese e oxidação dos lipídios, aumentando a lipólise nos tecidos adiposos brancos, desencadeando maior liberação dos ácidos graxos livres, motivo pelo qual provavelmente foi observado menor síntese lipídica. Além disso, foi observada maior captação dos lipídios da dieta.

Desta forma, estes fatores associados, certamente contribuíram para um menor peso, principalmente no tecido adiposo branco epididimal, provavelmente porque este tecido é mais sensível às alterações hormonais (como por exemplo da insulina). Os achados em relação à taxa de oxidação lipídica (situação basal) nos tecidos RET e EPI, concordam com os resultados obtidos por Gaiva et al. (2001). Segundo os autores os animais normocalóricos que tiveram a dieta acrescida com óleo de soja não apresentaram modificação na variável acima descrita, o mesmo foi observado no presente estudo em ratos alimentados com dieta normocalórica que receberam o produto fermentado.

Szkudelza et al. (2001) estudaram o efeito da genisteína (fitoestrógeno das isoflavonas da soja) sobre a lipólise e a lipogênese de células adiposas isoladas em ratos, observaram que a genisteína afeta o metabolismo dos tecidos adiposos brancos inibindo a lipogênese e a conversão da glicose em lipídios, além de ativar a lipólise. Segundo os autores isto provavelmente ocorre por mudanças conformacionais no transportador GLUT 4, e pela inibição da hexose do transportador GLUT 1. Esta

isoflavona pode restringir a entrada de glicose para dentro dos adipócitos em condições basais ou ainda quando estimulada pela insulina. Além disso, a genisteína parece inibir nos adipócitos, o AMPc fosfodiesterase, que atua como um pivô central na ativação das enzimas lipogênicas, inibindo o metabolismo do Acetil-CoA. Os autores concluíram que os fitoestrógenos podem limitar o depósito de gordura nestas células adiposas

Vedavanam et al. (1999), sugeriram que as isoflavonas contidas na soja, beneficia os diabéticos, devido sua ação estrogênica e a capacidade de inibir a captação da glicose intestinal, diminuindo os transportadores de sódio glicose dependente, resultando em redução da hiperglicemia posprandial. Vários autores relataram que as isoflavonas podem auxiliar os indivíduos que apresentam peso excessivo, hiperlipidemia, que são os maiores riscos cardiovasculares comumente associados com a obesidade.

Tem sido descrito na literatura que as oligofrutoses (prebióticos) podem diminuir a expressão gênica das enzimas lipogênicas como a enzima málica, acetil CoA carboxilase, ATP citrato liase, glicose 3 fosfato desidrogenase, além de diminuir a insulina e a glicose acarretando em diminuição dos triglicerídeos (DELZENNE e KOK, 2001). Contudo os resultados obtidos neste trabalho não se devem apenas as isoflavonas contidas no produto fermentado, uma vez que no processamento do produto fermentado de soja ocorreu perda de 92% das isoflavonas contidas (ROSSI et al. 2000).

O consumo de produtos fermentados (leite) tem aumentado no mundo atual. Shah (2000) relatou que as proteínas do leite fermentado atuam como compostos

bioativos que diminuem significativamente a síntese lipídica nos tecidos adiposos, assim como aumentam a taxa de lipólise.

Sabe-se que tanto os microorganismos como os prebióticos presentes nos produtos fermentados podem modificar a microflora intestinal, estimulando a fermentação bacteriana (FOOKS e GIBSON, 2002). Os produtos da fermentação bacteriana são: o hidrogênio, dióxido de carbono, gás metano e os ácidos graxos de cadeia curta (acetato, butirato, propionato). Estes ácidos graxos de cadeia curta podem alterar a hidrólise dos triglicerídeos, diminuir a absorção dos lipídios, da secreção de insulina e da concentração circulante de glicose, além de inibir a síntese hepática do colesterol (PERIS et al., 2002; ANDERSON et al., 1999). Ainda segundo Agheli et al. (1998) os ácidos graxos de cadeia curta diminuem a atividade da enzima acetil CoA carboxilase. Contudo, neste trabalho não foram realizadas análises referentes à quantidade dos substratos produzidos por estas bactérias.

Em resposta ao produto fermentado, foi observado que o grupo que recebeu a dieta padrão associado ao produto fermentado apresentou menor área e diâmetro dos adipócitos nos tecidos RET e EPI, quando comparados com os grupos C e H. (Tabela 8, Figuras 7 e 8 ).

Ainda foi verificado que a área e o diâmetro dos adipócitos no tecido adiposo branco retroperitoneal (RET) foi maior nos animais que receberam a dieta acrescida de colesterol quando comparado com os demais grupos. Outro resultado que deve ser lembrado, foi que o grupo hipercolesterolêmico apresentou maior área de tecido adiposo branco epididimal do que o observado no grupo CPF e no grupo HPF (Tabela 8, Figuras 7 e 8).

Desta forma torna-se interessante mencionar que o produto fermentado evita o aumento da adiposidade tanto na região posterior do tronco do animal (RET) quanto visceral (EPI), inclusive quando o animal é submetido a uma dieta acrescida de colesterol. Tal fato pode ser observado quando foram analisados os grupos HPF aos grupos H e C. O grupo HPF apresentou redução de 32,28 % (A) e 18,11% (D) do RET, e redução 33,41% (A) e 18,39 % (D) do EPI, quando comparado ao grupo H. Além disso, o HPF apresentou redução de 10,88 % (D) do RET, e redução 41,28 % (A) e 21,93% (D) do EPI, quando comparado ao grupo C (Tabela 8, Figuras 7 e 8).

Vale ainda ressaltar que o aumento na deposição de gordura central é um dos principais fatores desencadeantes da Síndrome X ou “Síndrome Metabólica”, definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) por: tolerância diminuída à glicose ou diabetes, resistência à insulina, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, obesidade visceral e albuminúria (DÉPRES et al., 1999).

Fickova et al. (1997) estudaram os efeitos dos ácidos graxos poliinsaturados n-3 e n-6 sobre o peso corporal, ingestão alimentar e área de adipócitos no tecido adiposo epididimal. Os autores concluíram que o peso corporal, ingestão alimentar, e área do EPI foi menor no grupo alimentado com dieta enriquecida com n-3 quando comparado com n-6. Além disso o grupo n-3 apresentou menor concentração de triglicédeos, colesterol e insulina em relação ao grupo n-6.

Vários estudos têm demonstrado que a proteína da soja isolada é mais eficiente em ocasionar alterações no metabolismo lipídico e glicídico quando comparado ao a caseína, como por exemplo diminuição nos lipídios plasmáticos e hepáticos, nas

concentrações glicose e insulina plasmática (SUGANO et al., 1982; BABA et al., 1992; et al.; HURLEY, 1995).

Nagasaka et al. (2002) estudaram os efeitos da proteína da soja sobre a expressão do gene da obesidade e a adinopectina plasmática em ratos obesos. Segundo os autores o grupo que recebeu restrição calórica associada à proteína da soja isolada apresentou redução maior no peso corporal, no peso dos tecidos adiposos brancos mesentérico e epididimal e no TAM, conteúdo de gordura corporal, nos triglicérides, ácidos graxos livres, nos níveis de glicose, quando comparado com os grupos que receberam a restrição calórica com caseína. Apesar dos níveis de mRNA da adinopectina e da plasmática não serem diferentes, os valores foram maiores para o grupo que recebeu a dieta com restrição calórica com a caseína. Segundo os autores a dieta protéica como a da soja foi mais eficiente em reduzir o conteúdo de gordura corporal e os níveis de glicose plasmática do que a dieta com caseína.

Em resumo o produto fermentado de soja no presente trabalho influenciou tanto o tamanho da área como o diâmetro dos adipócitos nos tecidos adiposos estudados. Discretas modificações também foram observadas quando este produto foi associado à dieta padrão, verificou-se reduções tanto na área como no diâmetro do RET (A: 16.77%, D: 7.29 ) como do EPI ( A: 29.62% e D: 14.12% ), quando foram comparados os grupos CPF ao grupo C (Tabela 8, Figuras 7 e 8).

7.3 Efeito do produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico no tecido hepático em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

Em relação aos tecidos estudados o peso relativo do FIG no grupo H foi maior 18.55% e 25.10% do que no grupo C e CPF, respectivamente. Verificou-se que o grupo que recebeu a dieta enriquecida de colesterol apresentou maior peso absoluto, aumento de 76% na síntese lipídica, 48.45% no conteúdo de gordura do FIG quando comparado com grupo C (Tabelas 3, 5 e 6; Figuras 4 e 5). Estes resultados coincidem com os observados por Duarte et al. (1998), no qual os animais submetidos à dieta padrão associada à adição de colesterol e ácido cólico apresentaram maior peso do FIG quando comparado com os outros grupos, inclusive ao grupo controle.

Estes resultados provavelmente ocorreram porque o aumento do colesterol exógeno, inibe a síntese de colesterol endógeno, acarretado em aumento na síntese de triglicerídeos e conseqüentemente deposição de gordura (MEIJER et al., 1987). Semelhantemente as investigações reportadas por Martins e Dhoperhwarkar (1982) e Costa (1992) são concordantes com os obtidos no presente trabalho. Os autores relataram que os ratos que recebem a dieta enriquecida com colesterol tendem a acumular lipídios no fígado.

Os resultados do presente trabalho demonstraram que os animais que receberam a dieta padrão associada ao produto fermentado apresentaram menor peso relativo, conteúdo de gordura do FIG do que os grupos HPH e H e menor conteúdo de gordura em relação ao grupo C (Tabelas 3 e 6; Figura 5) . Por estes dados pode-se sugerir que o produto fermentado interfere no metabolismo lipídico do fígado, mesmo quando a dieta padrão é administrada.

Iritani et al. (1986) estudaram os efeitos de diferentes dietas protéicas sobre as enzimas lipogênicas do fígado em ratos. Segundo os autores a atividade da G6PDH,



enzima málica e a síntese lipídica no fígado, foi menor nos animais que se alimentaram com grãos da soja, proteínas vegetais e glúten do que os animais que foram alimentados com proteína animal, caseína, e proteína do peixe. Os achados do presente trabalho ainda coincidem com Mandini et al. (2000 b), os quais verificaram que os animais alimentados com 20% de proteína de soja apresentaram redução no peso do FIG, quando comparados com o grupo alimentado com 20% de caseína. Alguns autores estudaram uma dieta enriquecida com óleo de grãos da soja e observaram menor atividade da enzima malonil CoA nos hepatócitos, quando comparada com os ratos alimentados com baixos teores de gordura (PEGORIER et al., 1988).

No atual trabalho o produto fermentado de soja quando administrado em animais hipercolesterolêmicos parece amenizar os efeitos do colesterol no metabolismo lipídico, principalmente em relação a síntese lipídica no FIG que foi 82.31% menor nos animais HPF quando comparado com o H. Entretanto este mesmo produto não foi suficiente para reduzir o conteúdo de gordura em ratos nestas mesmas condições experimentais (Tabelas 5 e 6; Figuras 4 e 5). Contudo o peso relativo do FIG teve uma redução de 20.46% comparando-se com o mesmo grupo controle.

Delzenne e Kok (2001) estudaram a oligofrutose (um tipo de prebiótico) e observaram que este inibe a lipogênese hepática em ratos e induz a hipotrigliceridemia. Relataram que estes efeitos provavelmente ocorreram devido à presença dos ácidos graxos de cadeia curta, como o propionato, assim como da baixa glicemia e insulinemia observada. Dados estes concordantes com outros autores na literatura (WRIGHT et al., 1990; LIN et al., 1995).

Além disso, Fukushima e Nakano (1995) estudaram o efeito de um probiótico sobre o metabolismo lipídico de ratos alimentados com diferentes dietas. O probiótico utilizado reduziu o peso do FIG em 35%, as concentrações de LDL, VLDL e IDL e inibiu a síntese da enzima hidroximetilglutaril CoA redutase nos animais que receberam tanto a dieta enriquecida com colesterol como naqueles alimentados com uma dieta hiperlipídica associado ao probiótico.

Chen et al. (1984) descreveram que a utilização dos prebióticos, estimula liberação dos ácidos graxos de cadeia curta, entre estes o propionato. Segundo os autores este produto inibe a síntese dos ácidos graxos no fígado, diminuindo a síntese lipídica, provavelmente por competição com o lactato, diminuindo inclusive as concentrações de triglicerídeos e inibindo a formação do colesterol. Estes resultados foram posteriormente confirmados por Nishina e Freedland (1990), sendo que o prebiótico reduziu a enzima piruvato desidrogenase, assim como da síntese lipídica no tecido hepático.

Ainda McCarty (1999) relatou que a proteína da soja assim como outras proteínas vegetais apresentam em sua composição maior quantidade de aminoácidos não essenciais do que as proteínas de origem animal. As proteínas vegetais atuam nos hepatócitos estimulando a liberação do glucagon, inibindo a insulina, além de atuarem nos mecanismos dependentes de AMPc que regulam as enzimas lipogênicas, a síntese de colesterol, a regulação da captação hepática de LDL, e a produção do IGF-1. Sendo assim, dietas protéicas de origem vegetal podem reduzir as concentrações plasmáticas de lipídios, promover perda de peso e diminuir a atividade das IGF-1 circulantes, e poderia reduzir inclusive o desenvolvimento do câncer e as doenças inflamatórias.

Estudos em humanos e animais têm confirmado que produtos fermentados podem inibir a síntese da enzima hidroximetilglutaril CoA redutase, limitando a biosíntese de colesterol e diminuindo assim as concentrações de colesterol (GILLILAND et al., 1985). Outro estudo realizado por Hosono (2000), demonstrou que o uso do *Lactobacillus gasser* SBT 0207 pode auxiliar no controle do colesterol, uma vez que o probiótico suprime a reabsorção dos ácidos biliares para o interior da circulação entero hepática e aumenta a excreção dos esteróides fecais em ratos submetidos à dieta hipercolesterolêmica.

Estes achados coincidem parcialmente com os obtidos por Rossi et al. (2000), que após estudarem o mesmo produto fermentado de soja do atual trabalho, observaram redução de 18.4% do colesterol total e aumento de 17.8 % nas frações HDL, desta forma, concluíram que este produto de soja pode ser um possível coadjuvante no controle de quadros hipercolesterolêmicos.

Foi descrito na literatura que a genisteína pode ter efeito direto sobre o metabolismo lipídico tanto no fígado como no tecido adiposo. Por exemplo, uma preparação onde foram analisadas células isoladas no fígado, verificou-se que a genisteína reduz a incorporação da glicose C<sub>14</sub> nas células de gordura, além de aumentar a saída dos ácidos graxos de cadeia média dos lipídios. Ainda estas mudanças foram acompanhadas por diminuição nas concentrações dos triglicerídeos hepáticos (NOGOWOSKI et al., 1998).

Analisando de modo geral, o produto fermentado de soja utilizado no presente trabalho promoveu ajustes metabólicos específicos no tecido hepático, auxiliando na redução do acúmulo de gordura no FIG, interferindo inclusive no peso deste tecido,

assim como na redução da síntese lipídica e no colesterol total. Estes dados podem ser indicativos que o produto fermentado de soja pode minimizar os efeitos de quadros hiperlipidêmicos e hipercolesterolêmicos, diminuindo o risco para o desenvolvimento de aterosclerose e esteatose hepática.

7.4 Efeito do produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico no tecido adiposo marrom interescapular (TAM) em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

O tecido adiposo marrom interescapular é um importante sítio de termogênese, sendo responsável por 60% da produção de calor em ratos aclimatados ao frio (HIMMS- HAGEN, 1965). O TAM apresenta a termogênese facultativa, aquela induzida pela dieta. Na atualidade sabe-se que não só o conteúdo calórico como a composição da dieta controlam a atividade termogênica no tecido adiposo marrom (BRITO et al., 1992)

Desta forma Klein et al. (2000), estudaram o metabolismo energético e o hormônio tiroideano sobre o crescimento de ratos em resposta à diferentes dietas protéicas. Os autores observaram que os animais alimentados com a proteína da soja apresentaram maior conteúdo de proteína e massa mitocondrial no TAM em relação aqueles alimentados com caseína. Ainda foi observada menor eficiência na utilização de energia. Segundo Saito (1991) a soja pode aumentar a consumo de energia e a

atividade da UCP1 no tecido adiposo marrom, reduzindo o peso do tecido adiposo branco.

No presente trabalho foi observado que o grupo que recebeu a dieta enriquecida com o colesterol teve redução de 45.27 %, 32.34 % e 45.25 % no conteúdo de gordura quando comparado aos grupos C, HPF e CPF respectivamente. Entretanto o grupo H apresentou aumento na taxa de síntese lipídica de 84.25 %, 77.21 %, 84.86 quando comparado com os grupos HPF, CPF e C respectivamente (Tabelas 5 e 6 ; Figuras 4 e 5). O produto fermentado quando administrado no grupo hipercolesterolêmico parece minimizar os efeitos do colesterol, modificando a resposta metabólica no TAM, reduzindo a síntese lipídica, que se assemelha aos resultados observados nos grupos que receberam a dieta padrão. Além disso no grupo H a síntese lipídica foi maior do que nos outros grupos, provavelmente para manter o conteúdo de gordura que estava reduzido, uma vez que os ácidos graxos são os principais combustíveis para o funcionamento deste tecido.

Comportamento semelhante foi observado por Kawashita (2000), no qual uma dieta hiperproteica provocou redução na síntese lipídica de cerca de 76% no TAM, quando comparada com a observada no grupo de animais que receberam dieta com carboidrato. Segundo a autora, a síntese lipídica reduzida em ratos com esta dieta, deve-se a somatória de fatores metabólicos como por exemplo: baixos níveis de insulina e altos níveis de glucagon, e menor ativação da atividade simpática no TAM, verificado em animais com dieta Hiperproteica.

A regulação do metabolismo lipídico no TAM é extremamente complexa e aparentemente contraditória, um dos possíveis motivos é que este tecido tem como

função a geração de calor como atividade primária, enquanto a produção de calor em outros tecidos é um resultante secundário do metabolismo. O controle hormonal metabólico e neural simpático é diferente do que ocorre em outros tecidos, permitindo que os estoques de triaglicerídeos sejam preservados frente as variações nutricionais, e temperatura ambiente, isso ocorre para o bom funcionamento deste tecido, pois os ácidos graxos são os principais substratos utilizados por este tecido. Este tecido apresenta peculiaridades como por exemplo a ativação da lipogênese ocorre paralelamente ao aumento da lipólise (KAWASHITA , 2000). Além disso, a lipogênese no TAM também é regulada pelo sistema nervoso central via sistema nervoso simpático, sendo que a estimulação do hipotálamo ventromedial aumenta lipogênese no TAM, e a denervação reduz a síntese de ácidos graxos neste tecido. São muitas as variáveis que podem influenciar o metabolismo o lipídico no TAM nas diversas condições fisiológicas e explicam porque os mecanismos básicos de controle deste tecido são ainda pouco conhecidos, quando comparados com fígado e aos tecidos adiposos brancos (KAWASHITA, 2000). Sendo assim outros estudos são necessários para afirmar com maior veracidade os efeitos deste produto fermentado no tecido adiposo marrom e na capacidade termogênica.

7.5 Efeito do produto fermentado de soja sobre o metabolismo lipídico no músculo gastrocnêmio em ratos submetidos a uma dieta enriquecida com colesterol.

Uma das características do músculo esquelético é sua flexibilidade metabólica expressada pela alta capacidade de modular a produção de energia (SALTIN e GOLLNICK, 1983). Parte desta plasticidade metabólica é refletida na capacidade de utilizar os carboidratos ou gordura. Sabe-se que indivíduos obesos têm aumento de triglicerídeos nos músculos e esse aumento pode estar relacionado ao maior conteúdo de malonil-CoA (potente inibidor da carnitina palmitoil transferase I), insulino resistência, baixa capacidade oxidativa, defeito na carnitina palmitoil transferase, (PAGLIASSOTTI et al., 1995; PAN et al., 1997; RUDERMAN et al., 1997; SAHA et al., 1997; SIMONEAU et al., 1997; KELLEY et al., 1999).

Da mesma forma que estão sendo estudados os mecanismos que modulam a entrada de triglicerídeos. Recentes pesquisas estão investigando a ação de determinados produtos a base de soja sobre o metabolismo lipídico e glicídico nos músculos esqueléticos. Sendo assim, dados da literatura relataram que a genisteína pode inibir a entrada de glicose estimulada pela UCP3 (HUPPERTZ et al., 2001). Ainda Nogowski et al. (1992) estudaram o efeito do *Coumestrol*, um tipo de fitoestrógeno sobre o metabolismo de carboidrato em ratas ooforectomizadas, os autores observaram que este fitoestrógeno não afetou as concentrações de insulina ou glucagon, mas diminuiu o glicogênio muscular e inibiu a entrada da insulina para o interior da membrana muscular. Segundo os autores estes resultados provavelmente ocorreram por mudanças nos receptores para a insulina. Contudo, são necessários novos estudos para confirmar esses dados.

No atual trabalho o grupo que recebeu o produto fermentado de soja associado à dieta rica em colesterol (HPF) apresentou redução de 46.89% no conteúdo de

gordura do músculo gastrocnêmio em relação ao grupo C, e redução na síntese lipídica de 90.36% quando comparado ao grupo H. O grupo H teve aumento na síntese lipídica de 90.36%, 87.95% e 86.74% quando comparado aos grupos HPF, CPF e C respectivamente (Tabelas 5 e 6; Figuras 4 e 5).

O produto fermentado de soja diminuiu o conteúdo de gordura dos tecidos, especificamente no tecido muscular. Vários trabalhos com a soja têm sido realizados para se observar ação desta no tecido muscular. Sendo assim, as pesquisas têm demonstrado que os fitoestrógenos podem diminuir a atividade de um conjunto de enzimas incluindo a proteína tirosina quinase (regulação da secreção de insulina), DNA topoisomerase I e II, ribossomo S6 quinase, enzimas estas que estão envolvidas nos mecanismos celulares e nucleares de sinalização, relacionados ao crescimento e proliferação celular (AKIYAMA et al., 1987; OKURA et al., 1988; MARKOVITS et al., 1989; LINASSIER et al., 1990). Desta forma Shaoquan et al. (1999) verificaram que a genisteína inibiu fortemente a síntese proteica, a proliferação e a fusão dos mioblastos, no tecido muscular esquelético. Concluem que o consumo de produtos com soja (genisteína e genistidina) podem afetar a potencialidade de crescimento e o desenvolvimento de músculos normais. Entretanto, diferentes resultados foram observados por Tada e Yokogoshi (2002), os autores estudaram os efeitos de diferentes dietas protéicas sobre a composição de músculos atroficos, submetidos à imobilização por suspensão. Todos os animais submetidos à suspensão obtiveram menor peso do músculo gastrocnêmio e soleus. As concentrações séricas de metilhistidina (Ntau-Methylhistidine), atividade das enzimas que degradam a proteína muscular assim como da calpaína e das proteosomas foram menores nos animais



alimentados com a proteína isolada da soja. Estes autores sugerem que a proteína isolada da soja reduz a proteólise da proteína miofibrilar no músculo esquelético através de redução na atividade da calpaína e das proteosomas, resultando na melhora do músculo atrofiado. Resultados semelhantes foram observados por Nikawa et al. (2002), que verificaram que a proteína da soja isolada pode prevenir a degradação muscular esquelética em animais submetidos a exercícios extenuantes, possivelmente através de inibição da proteólise mediada pela calpaína.

Entretanto, é quase inexistente trabalhos que têm documentado a ação dos prebióticos, probiótico e simbióticos sobre o metabolismo lipídico muscular.

## 7.6 Considerações finais

Após extensa revisão da literatura Bhatena e Velásquez (2002), concluem que a proteína da soja pode melhorar ou ainda evitar a progressão tanto do diabetes como da obesidade por redução da resistência insulina, redução da adiposidade por inibição da secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas ou por inibição da lipogêneses e/ou aumento da lipólise no fígado e nos adipócitos.

Os dados do presente trabalho indicam que ratos submetidos à dieta hipercolesterolêmica alimentados com o produto fermentado de soja (HPF) apresentaram os efeitos mais acentuados nos processos de oxidação, síntese e captação dos lipídios da dieta do que os animais alimentados com dieta padrão

associado ao produto fermentado de soja. Desta forma, os resultados deste trabalho estão compatíveis com os observados por Fumagalli et al. (1982) e Wong et al. (1998). Segundo estes autores a proteína da soja parece modificar em maior magnitude o metabolismo lipídico, quando o objeto de estudo é submetido a uma dieta hipercolesterolêmica, ou ainda, quando este apresenta uma condição hipercolesterolêmica. Ainda Fukushima e Nakano (1995) relataram que os efeitos dos probióticos são mais claramente visíveis quando são adicionados a dietas com alto teor de lipídios ou alto teor de colesterol.

Finalmente, se recomenda estudos complementares do produto fermentado de soja com o objetivo de identificar os possíveis mecanismos que estariam modificando o metabolismo lipídico. Para tanto, devem-se avaliar:

- ▶ A atividade protéica da soja e seus constituintes (lisina, arginina, ácido fólico, inibidores da tripsina);
- ▶ Grupos placebos sem a presença dos microorganismos;
- ▶ Os produtos resultantes da fermentação bacteriana, tais como: os ácidos graxos de cadeia curta (propionato, butirato, acetato).
- ▶ Estudar as principais enzimas envolvidas nos processos de lipogênese e lipólise

## 8.0 CONCLUSÕES

Tendo em vista os resultados e as considerações anteriormente expostas , pode-se concluir :

- ▶ O produto fermentado de soja demonstrou ser efetivo no controle de peso corporal e ingestão alimentar quando os grupos foram submetidos tanto à dieta com alto teor de colesterol, assim como na dieta padrão.
  
- ▶ A maioria das evidências demonstraram que o produto fermentado de soja diminuiu a síntese lipídica, o conteúdo de gordura e o peso dos tecidos adiposos brancos retroperitoneal e epididimal, principalmente quando os animais foram submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica. Pode-se sugerir que a administração do produto fermentado de soja pode ser um possível coadjuvante na redução da adiposidade central e visceral.
  
- ▶ O produto fermentado de soja reduziu o conteúdo de gordura, a síntese lipídica e peso do fígado, mesmo quando os animais foram submetidos a uma dieta com alto teor de colesterol, pode-se sugerir que este produto pode contribuir no controle das hipertrigliceridemias e prevenção da esteatose hepática.
  
- ▶ O produto fermentado de soja diminuiu o conteúdo de gordura no tecido muscular.

►O produto fermentado quando administrado no grupo hipercolesterolêmico aumentou o conteúdo de gordura e reduziu a síntese lipídica no TAM quando comparado com o grupo H.

Os resultados deste estudo sugerem que o produto fermentado de soja associado aos microorganismos *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus jugurti* diminuem a síntese lipídica e aumentam a lipólise basal nos tecidos adiposos brancos em ratos submetidos à dieta hipercolesterolêmica.

## 8.0 CONCLUSÕES

Tendo em vista os resultados e as considerações anteriormente expostas , pode-se concluir :

▶ O produto fermentado de soja demonstrou ser efetivo no controle de peso corporal e ingestão alimentar quando os grupos foram submetidos tanto à dieta com alto teor de colesterol, assim como na dieta padrão.

▶ A maioria das evidências demonstraram que o produto fermentado de soja diminuiu a síntese lipídica, o conteúdo de gordura e o peso dos tecidos adiposos brancos retroperitoneal e epididimal, principalmente quando os animais foram submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica. Pode-se sugerir que a administração do produto fermentado de soja pode ser um possível coadjuvante na redução da adiposidade central e visceral.

▶ O produto fermentado de soja reduziu o conteúdo de gordura, a síntese lipídica e peso do fígado, mesmo quando os animais foram submetidos a uma dieta com alto teor de colesterol, pode-se sugerir que este produto pode contribuir no controle das hipertrigliceridemias e prevenção da esteatose hepática.

▶ O produto fermentado de soja diminuiu o conteúdo de gordura no tecido muscular.

►O produto fermentado quando administrado no grupo hipercolesterolêmico aumentou o conteúdo de gordura e reduziu a síntese lipídica no TAM quando comparado com o grupo H.

Os resultados deste estudo sugerem que o produto fermentado de soja associado aos microorganismos *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus jugurti* diminuem a síntese lipídica e aumentam a lipólise basal nos tecidos adiposos brancos em ratos submetidos à dieta hipercolesterolêmica.

---

**REFERÊNCIAS**

ABADIE, J. M.; MALCOM, G. T.; PORTER, J. R. et al. Can associations between free fatty acid levels and metabolic parameters determine insulin resistance development in obese Zucker rats? **Life Science**, v. 69, n. 22, p. 2675-83, 2001.

ABLER, A.; SMITH, J. A.; RANDAZZO, P. A. et al. Genistein differentially inhibits postreceptor effects of insulin in rat adipocytes without inhibiting the insulin receptor kinase. **Journal Biological Chemistry**, v. 267, n. 6, p. 3946–3951, 1992.

ABRAHAM, A. G.; DE ANTONI, G. L. Characterization of kefir grains grown in cows milk and in soya milk. **Journal Dairy Research**, v. 66, n. 2, p. 327-333, 1999.

AGERBAEK, M.; GERDES, L. U.; RICHELSEN, B. Hypocholesterolaemic effects of a new fermented milk product in health middle-aged men. **European Journal Clinical Nutrition**, v. 49, n. 5, p. 346-352, 1995.

AGHELI, N.; KABIR, M.; BERNI-CANANI, S. et al. Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-Fed insulin-resistant rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 8, p. 283-1288, 1998.

AKIYAMA, T.; ISHIDA, J.; NAKAGAWA, S. et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. **Journal Biological Chemical**, v. 262, p. 5592–5595, 1987.

ALLISON, D. B.; GADBURY, G.; SCHATZ, L. G. et al. A novel soy-based meal replacement formula for weight loss among obese individuals: a randomized controlled clinical trial. **European Journal Clinical Nutrition**, v. 57, n. 4, p. 514-522, 2003.

ANDERSON, J. M.; JOHNSTONE, B. M.; COOK-NEWEL, M. E. Meta-analysis of effects of soy protein intake on serum lipid in human. **Journal of New England Medicine**, v. 333, p. 276-282, 1995.

ANDERSON, J. M.; SMITH, B. M.; WASHNOCK, C. S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 70, n. 3, p. S465-S474, 1999.

- AOYAMA, T.; FUKUI, K. K.; TAKAMATSU, K. et al. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary rats and genetically obese mice. **Journal of Nutrition**, v.12, p. 394-354, 2000.
- ASSIMACOPOULOS-JEANNET, F.; BRICHARD, S.; RENCUREL, F. et al. In vivo effects of hyperinsulinemia on lipogenic enzymes and glucose transporter expression in rat liver and adipose tissues., **Metabolism**, v. 44, n. 2, p. 288-233, 1995
- AZZOUT-MARNICHE, D.; BECARD, D.; GUICHARD, C. et al. Insulin effects on sterol regulatory-element-binding protein-1c (SREBP-1c) transcriptional activity in rat hepatocytes. **Journal of Biochemical**, v. 350, pt. 2, p. 389-393, 2000.
- BABA, N.; RADWAN, H.; ITALLIE, T.V. Effects of casein versus soyprotein diets on body composition and serum lipid levels in adult rats, **Nutrition Research**, v. 12, n. 2, p. 279–288, 1992.
- BAI, Y.; ZHANG, S.; KIM, K. S. Obese gene expression alters the ability of 30 A5 preadipocyte to respond to lipogenic hormones. **Journal Biology Chemical**, v. 271, n. 24, p. 3939-13942, 1996
- BARZEL, U.S. A clinical trial of effects of dietary patters and blood pressure. **Journal of New England Medicine**, v. 336, p. 1117-1124, 1997.
- BHATHENA, S. J.; VELASQUEZ, M. T. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 76, n. 6, p.1191-1201, 2002.
- BIRNBAUM, M. J. Lipolysis: more than just a lipase Journal. **Cell Biology**, v. 161, n. 6, p. 1011-1012, 2003.
- BJÖRNTORP, P. Neuroendocrine factors in obesity. **Journal Endocrinology**, v. 155, n. 2, p. 193-195, 1997.
- BOEVER, P. D.; DEPLANKE, B.; VERSTRAETE, W. Fermentation by gut microbiota cultered in a Simulator of human intestinal microbial ecosystem is improved by supplementing a soygerm powder. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 10, p. 2599-2606, 2000.



BONADONNA, R. C.; GROOP, L.; KRAEMER, N. et al. Obesity and insulin resistance in human: a dose-response study. **Metabolism**, v. 39, n. 5-12, p. 452-459, 1990.

BOSELLO, O.; COMINACINI, L.; ZOCCA, I. Short - and long-term effects of hypocaloric diets containing proteins of different sources on plasma lipids and apoproteins of obese subjects. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 32, n. 4, p. 206-214, 1998.

BRAY, G. A. Obesity. In: \_\_\_\_\_ **Basic & Clinical Endocrinology**, 4 ed. : Appleton & Lange, 1994, p. 670-687.

BRAY, G. A.; TARTAGLIA, L. A. Medical Strategies in the treatment of obesity. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 672-677, 2000.

BRITO, M. N.; BRITO, N. A.; MIGLIORINI, R. H. Thermogenic capacity of brown adipose tissue is reduced in rats fed a high protein, carbohydrate-free diet. **Journal of Nutrition**. v. 122, p. 2081, 1992.

BRUN, S.; CARMONA, M. C.; MAMPEL, T. et al. Activators of peroxisome –activated receptor-alpha induce the expression of the uncoupling protein-3 gene in skeletal muscle: a potencial mechanism for the lipid intake-dependent activation of uncoupling protein-3 gene expression at birth. **Diabetes**, v. 48, n. 6, p. 1217-1222, 1999.

BUCHOWSKI, M. S.; SUM, S. Energy expenditure, television viewing and obesity. **International Journal of Obesity**, v. 20, n. 3, p. 236-244, 1996.

BUONO, M. A.; ERICKSON, L. E.; FUNG, D. Y. C. et al. Carbohydrate utilization and grown kinetics in the production of yogurte from soymilk. I. Experimental methods. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 14, p. 135-153, 1990.

CAREY, D. J.; JENKINS, A. B.; CAMPBELL, L. V. et al. Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women: direct measurements reveal a strong relationship in subjects at both low and high risk of NIDDM. **Diabetes**, v. 45, n. 5, p. 633-638, 1996.

CASADO, M.; VALLET, V. S.; KAHN, A. et al. Essencial role in vivo of upstream stimulatory factors for a normal dietary response of fatty acid synthase gene in the liver **Journal of Biochemical**, v. 274, n. 4, p. 2009-2013, 1999.

CHAO, I.; MARCUS SAMUELS, B.; MASON, M. M. et al. Adipose tissue is required for the antidiabetic, but not for the hypolipidemic, effect of thiazolidinediones. **Journal Clinical Investigation**, v. 106, n. 10, p. 1221-1228, 2000.

CHEN, J. R.; CHIOU, S. F.; SHIEH, M. J. et al. The effects of soybean protein-derived hydrolysate on lipid metabolism in rats fed a high cholesterol diet. **Journal of Food Biochemistry**, v. 26, n. 5, p. 391-477, 2002.

CHEN, W. J. L.; ANDERSON, J. W.; JENNINGS, D. Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol fed rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 175, n. 2, p. 215-218, 1984.

CIANFLONE, K. Acylation stimulating protein and the adipocyte. **Journal Endocrinological**, v. 155, n. 2, p. 203-206, 1997.

CIANFLONE, K.; MASLOWASKA, M.; SNIDERMAN, A.D. Acylation stimulating protein (ASP) autocrine: new directions. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 10, p. 31-41, 1999.

CISTERNAS, J.R. Fisiologia do tecido adiposo. In: \_\_\_\_\_ **Tratado de Fisiologia Aplicado a Nutrição**, São Paulo: Robe Editorial, 2002.

CONSENSO Latino Americano de Obesidade. In: ASSOCIAÇÃO Brasileira de Estudos sobre Obesidade. [São Paulo, 200-] Disponível em <[www.abeso.org.br/doc/consenso.doc](http://www.abeso.org.br/doc/consenso.doc)> Acesso em: 18 jul. 2004.

COSTA, N.M.B. **Investigation in to the cholesterol lowering property of bakee bean (phaseolus velgaris)**. 1992, 200 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos – Nutrição humana) – University of Reading, 1992.

CUMMINGS, J. H.; MACFALARNE, G. T. A review: The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. **Journal Applied Bacteriol**, v. 70, p. 443-59, 1991.

DÂMASO, A. R. **Efeitos do exercício agudo e crônico sobre o metabolismo lipídico e celularidade adiposa de ratas no período de lactação e após o desmame**. 1996, 120 f. Tese de Doutorado – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, 1996.

DELZENNE, N.; KOK, N. Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 73, p. S465 – S468, 2001.

DENADAI, R. C.; VITOLO, M. R.; MACEDO, A. S. et al. Efeitos do exercício moderado e da orientação nutricional sobre as variáveis a composição corporal de adolescentes obesos avaliados por densitometria óssea (dexa) **Revista Paulista de Educação física**. v. 12, n. 2, p. 210-18, 1998.

DESPRES, J. P. Insulin resistance and hyperglycemic associated risk factors: session summary. **Diabetes Care**, v. 22, n. 3, p. S38-S40, 1999.

DÉSPRES, J. P.; MARETTE, A. relation of components of insulin resistance syndrome to coronary disease risk . **Current Opinion In lipidology**, v. 5, n. 4, p. 274-289, 1994.

DIAMOND, F. B; EICHLER, D. Leptin and the adipocyte endocrine system **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 39, n. 4-5, p. 499-525, 2002.

DUARTE, H. S.; COSTA, N. M. B.; LEAL, P. F. G. et al. Avaliação de sopas desidratadas ricas em fibra na redução do colesterol sanguíneo em ratos. **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 11, n. 2, p.149-161, 1998.

DUMESNIL, J. G.; TURGEON, J.; TREMBLAY, A. et al. Effects of a low glycaemic index-low fat-high protein diet on the atherogenic metabolic risk profile of abdominally obese men. **British Journal of Nutrition**, v. 86, n. 5, p. 557-568, 2001.

EGGSTEIN, M.; KREUTZ, F. H. Eine neue bestmimmung der neutralfette in blutserum und gewebe: Prinzing, durchfuhrung und besprechung der methode. **Klinische Wochenschrift**, v. 44, p. 262-267, 1966.

EPSTEIN, L. H.; WING, R. R.; PENNER, B. C. et al. Effects of school-based aerobic on blood pressure in adolescent girl at risk for hypertension. **Journal Pediatric**, v. 107, p. 358-361, 1985.

ESTEVEES, E. A.; MONTEIRO, J. B. R. Efeitos benéficos das isoflavonas em doenças crônicas. **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 14, n. 1, p. 43-52, 2001.

ETHERTON, T. D. The biology of somatotropin in adipose growth and nutrient partitioning. **Journal of Nutrition**, v. 130, v. 11, p. 2623-2625, 2000.

EVERSON, G. T.; DAGGY, B.P., MCKINLEY, C. et al. Effects of psyllium hydrophilic mucilloid on LDL-cholesterol and bile acid syntesis in hypercholesterolemic men, **Journal of Lipid Research**, v. 33, n. 8, p. 1183-1192, 1992.

FARMAKALIDIS, E.; MURPHY, P. A. Isolation of 6'' –O-acetyldaidzen and of 6'' –O-acetylgenistein from toasted defatted soy flakes. **Agriculture Food Chemical**, v. 33, p. 385-389, 1985.

FICKOVA, M.; HUBERT, P.; CRÉMEL, C., et al. Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids rapidly modify fatty acid composition and insulin effects in rat adipocytes. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 3, p. 512-519, 1998.

FISLER, J. S.; DRENICK E. J.; YOSHIMURA, N.N. et al. Plasma concentration of amino acids in obese men consuming low-calorie diets composed of soy or collagen protein. **International Journal of Obesity**, v. 9, n. 5, p. 335–346, 1985.

FLEGAL, K. M.; CARROLL, M. D.; OGDEN, C. L. et al. Prevalence and trends in Obesity among US adults, 1999-2000, **Jama**, v. 288, n. 14, p. 1723-1727, 2000.

FLEGAL, K. M. The obesity epidemic in children and adults: current evidence and research issues. **Medicine Science Sports and Exercise**, v. 31, n. 11, p. 509-514, 1999.

- FOOKS, L. J.; GIBSON, G. R. Probiotics as modulators of the gut flora **British Journal of Nutrition** v. 88, n. 11, p. S39-S49, 2002.
- FORETZ, M.; GUICHARD, C.; FERRE, P. et al. Sterol regulatory element binding protein-1c is a major mediator insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 22, p. 12737-12742, 1999.
- FRAYN, K. N.; FIELDING, B. A.; SUMMERS, L.K. Investigation of human adipose tissue metabolism in vivo. **Journal Endocrinological**, v. 155, n. 2, p. 187-189, 1997.
- FREUBIS, J.; TSAO, T. S.; JAVORSCHI, S. et al. Proteolytic cleavage product of 30 kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, p. 2005-2010, 2001.
- FUKUSHIMA, M.; NAKANO, M. The effect of probiotic on fecal and liver lipid classes in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 73, n. 5, p. 701-710, 1995.
- FULLER, R. Probiotic in man and animais. **Journal Applied Bacteriology**, v. 66, n. 5, p. 365-378, 1989.
- FUMAGALLI, R.; SOLERI, L.; FARINA, R. Fecal cholesterol excretion studies in type II hypercholesterolemic patients treated with the soybean protein diet. **Atherosclerosis**, v. 43, n. 2-3, p. 341-353, 1982.
- GAIVA, M. H.; COUTO, R. C.; OYAMA, L. M. et al. Polynsaturated fatty acid-rich diets: effects on adipose tissue metabolism in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 86, n. 3, p. 371-377, 2001.
- GERMINARIO, R.; SNIDERMAN, A.D.; MANUEL, S. Coordinate regulation of triacylglycerol syntesis and glucose transport by acylation –stimulating protein. **Metabolism**, v. 42, n. 5, p. 574-580, 1993.
- GIBSON, G. R.; COLLINS, M. D. O conceito da microbiologia colônica equilibrada, os prebióticos e os simbióticos. **42º Seminário de Nestlé**, p.11, 1998.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401-1412. 1995.

GILLILAND, S. E.; NELSON, C. R.; MAXWELL, C. Assimilation of cholesterol by lactobacillus acidophylus . **Applied Environmental Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 377-381, 1985.

GOODPASTER, B. H.; THAETE, F. L; SIMONEAU, J. A. et al. Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle compositions predict insulin sensitivity independently of visceral fat. **Diabetes**, v. 46, n. 10, p. 1579–1585, 1997.

GOPAL, A.; SHAH, N. P.; ROGISKI, H. Bile tolerance, taurocholate desconjugation and Bifidobacterium spp. **Milchwissenschaft**, v. 51, p. 619-623, 1996.

GREENBERG, A. S. J. J.; EGAN, S. A.; WEK, M. C. et al. Isolation of cDDNAs for perilipins A and B : sequence and expression of lipid droplet-associated proteins of adipocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 15, n. 90, p. 12035-12039, 1993.

HASTY, A. H. Sterol regulatory element-binding protein-1 is regulated by glucose at the transcriptional level, **Journal Biological Chemistry**, v. 275, p. 31069-31077, 2000.

HILL, J.; MELASIN, E. Overview of determinants of overweight and obesity: current evidence and research issues. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 31, n. 11, p. S515-S521, 1999.

HIMMS-HAGEN, J. Lipid metabolism in warm-acclimated and cold–acclimated rats exposed to cold. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v. 43, p. 379-403. 1965.

HIMMS-HAGEN, J. Brown adipose tissue thermogenesis and obesity. **Progress Lipid Research**, v. 28, n. 2, p. 67-115, 1989.

HIRSCH J.; GALLIAN, E. Methods for the determination of adipose cell size in man and animals. **Journal Lipid Research**, v. 9, n. 1, p. 110-9, 1968

- HOLM, C.; OSTERLUND, T.; LAURELL, H. et al. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. **Annals Review Nutrition**, v. 20, p. 365-393, 2003.
- HOSONO, A. Effects of administration of lactobacillus gasseri on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic rats. **Journal of Dairy Research**, v. 83, n. 8, p. 1705-1711, 2000.
- HOSONO, A.; TONO-OKA, T. Binding of cholesterol with lactic acid bacteria cells. **Milchwissenschaft**, v. 50, p. 556-560, 1995.
- HUPPERTZ, C.; FISCHER, B. M.; KIM, Y. B. et al. Uncoupling protein 3 (UCP3) stimulates glucose uptake in muscle cells through a phosphoinositide 3-kinase-dependent mechanism. **Journal Biological Chemical**, v. 276, n. 16, p. 2520-2529, 2001.
- HURLEY, C.; GALIBOIS, I.; JACQUES, H. Fasting and post-prandial lipid and glucose metabolisms are modulated by dietary proteins and carbohydrates: role of plasma insulin concentrations. **Journal Nutrition Biochemical**, v. 6, p. 540-546, 1995.
- IIZUKA, K.; NAKAJIMA, H.; NAMBA, M. et al. Metabolic consequence of long-term exposure of pancreatic  $\beta$  cells to free fatty acid with special reference to glucose insensitivity. **Biochemica at Biophysica Acta**, v. 1586, p. 23-31, 2002.
- IMBEAULT, P.; LEMIEUX, S.; PRUD'HOMME, D. et al. Relationship of visceral adipose tissue to metabolic risk factors for coronary heart disease: is there a contribution of subcutaneous fat cell hypertrophy. **Metabolism**, v. 48, n. 3, p. 355-362, 1999.
- IRITANI, N.; SUGIMOTO, T.; FUKUDA, H. Gene expression of leptin, insulin receptors and lipogenic enzymes are coordinately regulated by insulin and dietary fat in rats. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 5, p. 1183-1188, 2000.
- IRITANI, N.; NAGASHIMA, H.; FUKUDA, H. et al. Effects of dietary proteins on lipogenic enzyme in rat liver. **Journal of Nutrition**, v. 116, n. 2, p. 190-197, 1986.

- JAMES, P. T.; LEACH, R.; KALAMARA., E. et al. The worldwide obesity epidemic. **Obesity Research**, v. 9, n. 5, p. S228-S233, 2001.
- JENKINS, D. J. A.; WOLEVER, T. M. S.; SPILLER, G. et al. Hypocholesterolemic effect of vegetable protein in a hypocaloric diet. **Atherosclerosis**, v. 78, n. 2-3, p. 99–107, 1989.
- JÉQUIER, E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. **Annals of the New York Academy of Sciences** , v. 967, p. 379-388, 2002.
- JUMP, D. B.; CLARKE, S. D.;THELEN, A. et al. Coordinate regulation of glycolitic and lipogenic expression by polyunsaturated fatty acid. **Journal Lipid Research**, v. 35, n. 6, p. 1076-1084, 1994.
- KARBOWSKA, J.; KOCHAN, Z.; SWIERCZYNSKI, J. Increase of lipogenic enzyme mRNA levels in rat white adipose tissue after multiple cycles of starvation-refeeding. **Metabolism**, v. 50, n. 6, p. 734-738, 2001.
- KAWASE, M.; HASHIMOTO, H.; HOSODA, M. et al. Effects of administration of fermented milk containing whey protein concentrate to rats and healthy men on serum lipids and blood pressure. **Journal Dairy Science**, v. 83, p. 255-263, 1999.
- KAWASHITA, N.M. **Controle do metabolismo lipídico no tecido adiposo marrom de ratos**. 2000, 124f. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2000.
- KELLEY, D. E.; GOODPASTER, B. H. Effects of physical activity on insulin action and glucose tolerance in obesity. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 31, n. 11, p. S619-S630, 1999.
- KELLEY, D. E.; GOODPASTER, B.; WING,R. R. et al. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity and weight loss. **American Journal Physiology** v. 277, p. E1130-E1141, 1999.
- KERSTEN, S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. **European Molecular Biology Organization**, v. 2, n. 4, p. 282-286, 2001.



- KIM, H. J.; TAKAHASHI, M.; EZAKI, O. Fish oil feeding decreases mature sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1) by down-regulation of SREBP-1c mRNA in mouse liver. **Journal Biological Chemistry**, v. 274, n. 36, p. 25892-25898, 1999.
- KLEIN, M.; SHADEREIT, R.; KUCHENMEISTER, U. Energy metabolism and thyroid hormone levels of growing rats in response to different dietary proteins-soy protein or casein. **Archives Tierernahr**, v. 53, n. 2, p. 99 -125, 2000.
- KRAEMER, F. B.; PATEL, S., SAEDI, M. S. et al. Detection of hormone-sensitive lipase in various tissues. I. expression of a HSL/bacterial fusion protein and generation of anti-HSL antibodies. **Journal Lipid Research**, v. 34, p. 663-671, 1993.
- LATASA M. J.; MOON, Y.S.; KIM, K.H. et al. Nutritional regulation of the fatty acid synthase promoter in vivo: sterol regulatory element binding protein functions through an upstream region containing a sterol regulatory element. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 19, p. 10619-10624, 2000.
- LEAN, M. The cause of weight gain and patterns of weight change in different communities and individuals. In: \_\_\_\_\_ **Book Clinical Handbook of Weight Management**, 1ed. : Martin Dunitz , 1998, p.17-42.
- LELARIO, D. G.; GIMENO, S. G.; FRANCO, L.J. et al. Weight excess and abdominal fat in the metabolic syndrome among Japanese Brazilians. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, p. 4-11, 2002.
- LICHTENSTEIN, A.H. Soy protein, isoflavones and cardiovascular diseases risk. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 10, p. 1589-1592, 1998.
- LIN, Y.; VONK, R. J.; SLOOF, M. J. Differences in propionate-induced inhibition of cholesterol and triacylglycerol synthesis between human and rat hepatocytes in primary culture. **Brazilian Journal Nutrition**, v. 74, n. 2, p. 197-207, 1995.
- LINASSIER, C.; PIERRE, M.; LEPECQ, J. B. et al. Mechanisms of action in NIH-3T3 cells of genistein, an inhibitor of EGF receptor tyrosine kinase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 39, n. 1, p. 187-193, 1990.

LOTUFO, A. P. Increasing Obesity in Brazil: Predicting a new of Cardiocascular Mortality 2000. **Revista Paulista de Medicina**, v. 118, n. 6, p. 161-162, 2000.

MACKOWIAK, P.; NAGOWSKI, L.; NOWAK, K.W. Effect of isoflavone genistein on insulin receptors in perfused liver of ovariectomized rats. **Journal of Receptor and Signal Transduction Research**, v. 19, p. 283–292, 1999.

MANDINI, S.; LOPEZ, S.; BROND, S. et al. Hightly purified soybean protein is not hypocholesterolemic by stimulates cholesterol syntesis an expcretion and reduces polyunsaturades fatty acid biosynthesis. **Journal of Nutrition**, v. 16, p. 368-375, 1998.

MANDINI, S.; PROST, J.; BELLEVILLE, J. Dietary protein level and origin (casein and highly purified soybean protein) affect hepatic storage, plasma lipid transport and antioxidative defense status in the rat. **Nutrition**, v. 16, p. 368-75, 2000 b.

MARKOVITS, J.; LINASSIER, C.; FOSSE, P. et al. Inhibitory effects of the tyrosine kinase inhibitor genistein on mammalian DNA topoisomerase II. **Cancer Research**, v. 49, n. 18, p. 51111–51117, 1989.

MARTEAU, P.; RAMBAUD, J. C. D. Potential of using lactic acid bacteria for therapyand immunomodulation. **Microbiology Reviews**, v. 12, n. 1-3, p. 207-220, 1993.

MARTINS, M.; DHOPEHWARKAR, G. A. Effects of high cholesterol low carbohydrate diet on serum and liver lipids in rats. **Nutrition Reports International Los Altos**. v. 25, n. 6, p. 921-929, 1982.

MASLOWSKA, M.; SCANTLEBURY, T.; GERMINARIO, R. et al. Acute in vitro production of acylation stimulating protein in differentiated human adipocytes. **Journal Lipid Research**, v. 38, n. 1, p. 1-11, 1997.

MATER, M. K.; THELEN, A. P.; PAN, D. A. et al. Sterol response element-binding protein 1c (SREBP1c) is involved in the pollynsaturated fatty acid supression of hepatic S14 gene transcription. **Biological Chemical**, v. 274, n. 46, p. 32725-32732, 1999.

McCARTY, M. F. Vegan proteins may reduce risk of cancer, obesity, and cardiovascular disease by promoting increased glucagons activity. **Medical Hypotheses**, v. 53, n.6, p. 459-485, 1999.

MEYJER, G. W.; DEBRUIJINE, J. J.; BEYNEN, A. C. Dietary cholesterol-fat type combinations and carbohydrate and lipid metabolism in rats and mice. **Journal of Vitamin and Nutrition Research**, v. 57, n. 3, p. 319-326, 1987.

MURTI, T. W.; LAMBERET, G.; BOUILLANNE, C., et al. Lactobacilli growth in soya milk. Effects of viscosity, volatile compounds and proteolysis. **Sciences des Aliments**, v. 13, p. 491-500, 1993.

NAGASAKA, A.; FUKURI, K.; FUNAHASHI, T. et al. Effects of soy diet on the expression of adipose genes and plasma adinopectin.Horm. **Medicinal Chemistry Research**, v. 34, n. 11-12, p. 635-639, 2002.

NAGATA, C.; TAKATSUKA, N.; KURISU, Y. et al. Decreased serum total cholesterol concentration is associated with high intake of soy products in Japanese men and women. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 209-213, 1998.

NCEP - Executive Summary on the Tird Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel On Detection, Evaluation, and Treatment Of High Blood Cholesterol In Adults (Adults treatment Panel III) **Jama**, v. 285, p. 2486-2496, 2001.

NEDERGAARD, J.; GOLOZOUBOVA, V.; MATTHIAS, A. UCP1: the only protein able to mediate adaptive non—shivering thermogenesis and metabolic inefficiency. **Biochimical Biophys Acta**, v. 1504, n. 1, p. 82-106, 2001.

NHI conference. Gastrointestinal surgery for sever obesity. Consensus Development Conference Panel. **Annals International Medical Journal**, n. 115, p. 956-961, 1991.

NIEVES, D. J.; CNOP, M.; RETZLAFF, B. et al. The atherogenic lipoprotein profile associated with obesity and insulin resistance is largely attributable to intra-abdominal fat. **Diabetes**, v. 52, p. 172-179, 2003.

- NIKAWA, T.; IKEMOTO, M.; SAKAI, T. et al. Effects of a soy protein diet on exercise-induced muscle protein catabolism in rats. **Journal of Nutrition**, v. 18, n. 6, p. 490-495, 2002.
- NISHINA, P.; FREELAND, R., Effects of propionate on lipid biosynthesis in isolated rat hepatocytes. **Journal of Nutrition**, v. 120, p. 668-673, 1990.
- NOGOWSKI, L.; MACKOWIAK, P.; KANDULSKA, K. et al. Genistein-induced changes in lipid metabolism of ovariectomized rats. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 42, n. 6, p. 360-366, 1998.
- NOGOWSKI, L.; NOWAK, K.W.; MACKOWIAK, P. Effect of phytoestrogen-coumestrol and oestrone on some aspects of carbohydrate metabolism in ovariectomized female rats. **Archivum Veterinarium Polonicum**, v. 32, n. 3-4, p. 79-84, 1992.
- OKURA, A.; ARAKAWA, H., OKA, H. et al. Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [Val 12] Ha-ras-transformed NIH 3T3 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 157, n. 1, p.183-189, 1988.
- OLLER DO NASCIMENTO, C. M.; WILIANSON, D. H. Evidence for conservation of dietary lipid in the rat during lactation and the imedate period after removal of litter. Decreased oxidation of oral [ 1-14 C] triolein. **Biochemical Journal**, v. 239, n. 1, p. 233-236, 1986.
- OLLER DO NASCIMENTO, M. C. **Regulation of lipid metabolism in tissue of the lactating rat**. 1988,192 f, Tese (Doutorado - Bioquímica) University of Oxford , Inglaterra, 1988.
- OMS- Bulletin of World Health Organization, v. 80, p. 952-958, 2002.
- PAGLIASSOTTI, M. J. D.; PAN, P.; PRACH, T. et al. Tissue oxidative capacity, fuel stores and skeletal muscle fatty acid composition in obesity-prone and obesity-resistant rats. **Obesity Research**,v. 3, n. 5, p. 459-464, 1995.

- PAN, D. A.; S. LILLIOJA, A. D. KRIKETOS, M. R. et al. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. **Diabetes**, v. 46, n. 6, p. 983–988, 1997.
- PECIS, M.; AZEVEDO, M.; GROSS, J. L. Chicken and fish diet reduces glomerular hiperfiltration in IDDM patients. **Diabetes Care**, v. 7, p. 665-672, 1994.
- PEETERS, A.; BARENDREGT, J. J.; WILLEKENS, F. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life table analysis. **Annals of Internal Medicine**, v. 138, n. 1, p. 24-32, 2003.
- PERGORIER, J.P.; DUCE, P.H.; HERBIN, C. et al. Fatty acid metabolism in hepatocytes isolated from rats adapted to high-fat diets containing long –or medium chain triacylglycerols. **Biochemistry Journal**, v. 249, n. 3, p. 801-806. 1988.
- PERIS, P. G.; LESMES, I. B.; COMPES, C. et al. Metabolismo colónico de la fibra. **Nutrition Hospital**, v. 17, n. 11, p. S11-S16, 2002.
- PERSAUD, S. J.; HARRIS, T. E.; BURNS, C. J. et al. Tyrosine kinases play a permissive role in glucose-induced insulin secretion from adult rat islets. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 22, p. 19–28, 1999.
- POLONSKI, K. S.; STURIS, J.; BELL, G. I. Non-insulin-dependent diabetes mellitus: a genetically programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance. **Journal of New England Medicine**, v. 334, p. 777-783, 1996.
- PUSKA, P.; VARTIAINEN, E.; TUOMILEHTO, J. et al. Changes in premature deaths in Finland: successful long-term prevention of cardiovascular diseases. **Bull World Health Organ**, v. 76, n. 4, p. 419-25, 1998.
- RACETTE, S. B; DEUSINGER, S. S.; DEUSINGER, R. H. Obesity Overview of prevalence, etiology and treatment. **Physical Therapy**, v. 83, n. 3, p. 276-278, 2003.
- RAGLAND, D. R.; BUFFLER, P. A.; REINGOLD, A. L. et al. Disease and injury in California with projections to the year 2007. **Western Journal of Medicine**, v. 68, p. 378-399, 1998.

- REDDY, P. V.; MORRILL, J. L.; NAGARAJA, T. G. Release of free fatty from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities, **Journal Dairy Science**, v. 77, n. 11, 3410-3416, 1994.
- RICHELSEN, B.; KRISTENSEN, K.; PEDERSEN, S. B. Long term (6 months) effect of a new fermented milk product on the level of plasma lipoproteins- a placebo controlled and double blind study. **European Journal Clinical Nutrition**, v. 50, n. 12, p. 811-815, 1996.
- RICQUIER, D.; BOUILLAUD, F., The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP, AtUCP . **Biochemical Journal**, v. 345, pt. 2, p. 161-179, 2000.
- ROBERFOID, M.B. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v.127, S1398–S13401, 1999.
- ROBERFROID, M. B.; BORNET, F.; BOULEY, C. et al. Colonic microflora: nutrition and health. **Nutrition Review**, v. 53, n. 5, p. 127-130, 1995.
- ROBERFROID, M. B. Prebiotics preferential substrates for specific germs. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. S406-S409, 2001.
- ROBINSON, A. M; WILIAMSON, D.H. Control of glucose metabolism in isolated acin of the lactating mammary gland of rat. Effects of oleato on glucose utilization and lipogenesis. **Biochemical Journal**, v. 170, n. 3, p. 609-613,1978.
- RODUIT, R.; MASIELLO, P.; WANG, S.P. et al. A role for hormone-sensitive lipase in glucose stimulated insulin secretion: a study. In hormone-sensitive lipase-deficiente mice. A study in hormone sensitive lipase deficiente mice. **Diabetes**, v. 50, n. 9, p. 1970-1975, 2001.
- ROSSI, E.; VENDRAMINI, R. C.; CARLOS, I. Z. et al. Development of a novel fermented soymilk product with potential probiotic properties. **European Food Research Technology**, v. 10, p. 2861-2863, 1999.
- ROSSI, E. A.; DE GIORI, G. S.; HOLGADO, A. P. R. et al. *In vitro* effect of *Enterococcus Faecium* and *Lactobacillus Acidophilus* on cholesterol, **Microbiologie Aliments Nutrition**, v. 209, p. 305-307, 1994.

- ROSSI, E. A.; VENDRAMINI, R. C.; CARLOS I. Z. et al. Effects of a novel fermented soy product on the serum lipids of hypercholesterolemic rabbits. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 74, n. 2, p. 213-216, 2000.
- ROTH, G.; KOTZKA, J.; KREMER, L. et al. Map kinases Erk/1/2 phosphorylate sterol regulatory element –binding protein (SREBP)-1a at serine 117 in vitro, **Journal Biological of Chemistry**, v. 275, n. 43, p. 33303-33307, 2000.
- RUDERMAN, N. B.; SAHA, A. K.; VAVVAS, D. et al. Lipid abnormalities in muscle of insulin-resistant rodents. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 827, p. 221–230, 1997.
- SAHA, A. K.; VAVVAS, D.; KUROWSKI, T. G. et al. Malonyl-CoA regulation in skeletal muscle: its link to cell citrate and the glucose-fatty acid cycle. **American Journal Physiology**, v. 272, n. 4, pt. 1, p. E641–E648, 1997.
- SAITO, M. Effect of soy peptides on energy metabolism in obese animals. **Nutrition Science Soy Protein**, v. 12, p. 91–94, 1991.
- SALTIN, B., GOLLNICK, P.D. Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. In: \_\_\_\_\_ **Handbook of Physiology, Skeletal Muscle**. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., sect. 10, chapt. 19, 1983, p. 555–632.
- SCHREZENMEIR, J.; VRESE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. **American Journal Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 361S-364S, 2001.
- SCHWARTZ, R. S.; BRUNZEL, J. D. Energy, Balance, Storage, and Transport, In: \_\_\_\_\_ **Textbook of Physiology**, 21ed., W. B. Saunders Company, 1989, p. 1544-1561.
- SCUTTI, L. F.; ROSSI, E. A. Propriedades profiláticas e terapêuticas das culturas lácticas, **Cadernos de Nutrição**, v. 12, p. 9-18, 1996.
- STECHELL, K. D. R. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones, **American Journal Clinical Nutrition**, v. 134, n. 6, p. S1333-S1346, 1998.

SHAH, H. Effects of milk –derived bioactives : an overview. **British Journal Nutrition**, v. 84, n. 1, p. S53- S60, 2000.

SHAOQUAN, J. I.; GAWAIN, M. W.; FRANK, G. R. et al. Soybean Isoflavones, Genistein and Genistin, Inhibit Rat Myoblast Proliferation, Fusion and Myotube Protein Synthesis. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1291-1297, 1999.

SIEGRIST-KAISER, C. A.; PAULI, V.; JUGE-CUBRY, C. E. et al. Direct effects of leptin on Brown and white adipose tissue. **Journal Clinical Investigation** , v. 100, n. 11, p. 2858-2864, 1997.

SIMONEAU, J. A.; KELLEY, D. E. Altered glycolytic and oxidative capacities of skeletal muscle contribute to insulin resistance in NIDDM. **Journal Applied Physiology**, v. 83, n.1, p. 166–171, 1997.

SLAVIN, J. L.; KARR, S.C.; HUTCHIS, A. M. et al. Influence of soybean processing, habitual diet, and soy dose on urinary isoflavoid excretion. **American Journal Nutrition**, v. 68, n. 6, p. S1492-S1495, 1998.

SOUKAS, A.; COHEN, P.; SOCCI, N.D. et al. Leptin-specific patterns of gene expression um white adipose tissue. **Genes Development**, v. 14, n. 8, p. 963-980, 2000.

SPARROW, D.; BERKAN, G. A.; GERZOF, S. G. et al. Relationship of fat distribution to glucose tolerance : results of computed tomography in male participants of the Normative Aging Study. **Diabets**, v. 33, n. 4, p. 411-415, 1986.

STANBIE, D.; BROWNSY, R. W.; CRETТАZ, M. et al. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of fatty acid synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. **Biochemical Journal**, v. 160, p. 413–416. 1976.

STANTON, C.; GARDINER, G.; MEEHAN, H. et al. Market potential for probiotics. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. S476-S488, 2001.



STUBB, R. J.; COWARD, R. W. A.; PRENTICE, A. M., Convert manipulation of. the ratio of. dietary fat to carboydrate and energy density: effects on food intake and energy balance in free-living men eating ad libitum. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 62, p. 330-337, 1995.

SUGANO, M.; ISHIWAKI, N.; NAGATA, Y. Effects of arginine and lysine addition to casein and soya-bean protein on serum lipids, apolipoproteins, insulin and glucagon in rats. **British Journal Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 211–221, 1982.

SZKUNDELSKA, K.; NOGOWOSKI, L.; SZKUNDELSKI, T. Genistein affects lipogenesis and lipolysis in isolated rat adipocytes. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 75, n. 4-5, p. 265-271, 2001.

SZTALRYD, C.; XU, G.; DOWARD, J. T., TANSET, J. A. et al. Perilipin A is essential for the translocation of hormone-sensitive lipase during lipolytic activation., **Journal Cellular Biology** , v. 161, n. 6, p. 1093-1103, 2003.

TADA, O., YOKOGOSHI, H., Effects of different dietary protein composition on skeletal muscles atrophy by suspension hypokinesia/hypodynamia in rats. **Journal Nutrition Science Vitaminol**, v. 48, n. 2, p.115-119, 2002.

TAKATSUKA, N.; NAGATA, C.; KURISU, Y. et al. Hypocholesterolemic effects of soymilk supplementation with usual diet in premenopausal normolipidemic japanese women. **Preventive Medicine**, v. 31, n. 4, p. 308-314, 2000.

TANSEY, J. T.; HULM, A. M.; VOGT, R. et al. Functional studies on native and mutated forms of perilipin. A role in protein kinase A- mediated lipolysis of triacylglycerols. **Journal Biological Chemistry** , v. 278, n. 10, p. 8401-8406, 2003.

TARANTO, M. P.; MEDICI, M.; PERDIGON, G., et al. Effects of lactobacillus reuteri on the prevention of hypercholesterolemia in mice. **Journal Dairy Science**, v. 83, n. 3, p. 401-403, 1999.

TAYLOR, G. R. J.; WILLIAMS, C. M. Effects of probiotics and prebiotics on blood lipids, **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 4, p. S225-S230, 1998.

TEGLUND, S. Stat5a and Stat5b proteins have essential and nonessential, or redundant, roles in cytokine responses, **Cellular**, v. 93, n. 5, p. 841-850, 1998.

THEWKE, D. P.; PANINI, S. R.; SINENSKY, M., Oleate potentiates oxysterol inhibition of transcription from sterol regulatory element-1regulated promoters and maturation of sterol regulatory element binding proteins. **Journal Biological Chemical**, n. 273, v. 33, p. 21402-21407, 1998.

TISSIER, H. Taxonomi and ecology of bifidobacteria. **Bifidobacteria and Microflora**, v. 3, p. 11-28, 1984.

US DEPT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, National Center for Health Statistic. Third National Health and nutrition examination survey, 1988-1994, NHANES III Laboratory Data File (CD- ROM). Hyasttsville, Md. Centers for Disease Control and prevention, Public use data file documentation, nº 76200, 1996.

VEDAVANAM, K. ; SRIJAYANTA, S. ; O'REILLY, J. et al. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soyabean phytochemical extract (SPE). **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 7, p. 601–608, 1999.

VOET, D.; PRATT, C.; NETO, A.G.F. In : \_\_\_\_\_ **Fundamentos de Bioquímica**, Porto Alegre, Artes Médicas Sul, 1 ed., 2000, p. 931.

VOLGAREV, M. N.; VYSOTSKY, V. G.; MESHCHERYAKOVA, V. A. Evaluation of isolated soy protein foods in weight reduction with obese hypercholesterolemic and normocholesterolemic obese individual. **Nutrition Report International**, v. 39, p. 61, 1899.

WANG, M. Y.; LEE, Y.; UNGER, R. H. Novel form of lipolysis induced by leptin. **Journal Biological Chemistry**, v. 274, n. 25, p. 17541-17544, 1999.

WEIGLE, D. S.; SELFRIDGE, L. E.; SCHWARTZ, M. W. et al. BELTRANDELRIO, H. Elevated free fatty acid induce uncoupling protein 3 expression in mice : a potencial expanation for the effect of fasting. **Diabetes**, v. 47, n. 2, p. 298-302, 1998.

WONG, W.; SMITH, E. O. B.; STUFF, J. E. et al. Cholesterol- lowering effects of soy protein in normocholesterolemic and hipercholesterolemic men. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 68, n. 6, p. S1385-S1385, 1998.

- 
- WRIGHT, R. S.; ANDERSON, J. W.; BRIGES, S. R. Probionate inhibits hepatocyte lipid synthesis. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 195, n. 1, p. 26-29, 1990.
- YAESHIMA, T. Benefits of bifidobacteria to human health. **Bulletin of the International Dairy Federation**, v. 30, n. 3, p. 303-313, 1996.
- YAMASHITA, T.; SASAHARA, T.; POMEROY, S. E. et al. Arterial compliance, blood pressure, plasma leptin, and plasma lipids in women are improved with weight reduction equally with a meat-based diet and a plant-based diet. **Metabolism**, v. 47, n. 11, p. 1308–1314, 1998.
- YASRUEL, Z.; CIANFLONE, K.; MASLOWASKA, M., et al. Effects of acylation stimulating protein on the triacylglycerol synthetic pathway of human adipose tissue. **Lipids**, v. 26, n. 7, p. 495-499, 1991.
- YIN, D.; CLARKE, S. D.; PETERS, J. L.; ETHERTON, T. D. Somatotropin–dependent decrease in fatty acid synthase mRNA abundance 3T3-F442A stability. **Biochemical**, v. 331, pt. 3, p. 815-820, 1998.