

**BAIXA DOSE DE WHEY PROTEIN REDUZ GLICOSE, TRIGLICÉRIDES
 E CONTROLA O PESO COPORAL EM RATOS WISTAR**

Jaqueline Maisa Franzen¹, Juliano Graciano Vaz¹
 Vilmair Zancanaro¹, Rafael Mariano de Bitencourt^{1,2}

RESUMO

Objetivo: O aumento dos casos de obesidade e doenças metabólicas são consequências da dieta desequilibrada. Neste estudo, nós avaliamos a influência da baixa dose de whey protein concentrado (WPC) e dieta de cafeteria (CAF) sobre parâmetros metabólicos e bioquímicos em ratos Wistar. Materiais e métodos: 3 grupos experimentais foram utilizados: controle dieta padrão (CTL), baixa dose de WPC (WPD) e dieta de cafeteria (CAF), sendo as dietas ofertadas durante 8 semanas. Resultados: Os valores de peso corporal, gordura epididimal, Índice de Lee, Glicose, Triglicérides, Colesterol total e frações, ureia, creatinina, AST e ALT foram mensurados. Houve redução significativa de glicose ($P < 0,05$), triglicérides ($P < 0,01$), controle do peso corporal e não houve aumento no Índice de Lee no grupo WPD ($P > 0,05$). O grupo CAF apresentou resultados opostos ao grupo WPD, houve aumento significativo na glicose ($P < 0,05$), ganho de peso acentuado ($P < 0,001$), aumento no Índice de Lee ($P < 0,001$) e maior adiposidade epididimal em relação ao grupo CTL ($P < 0,01$) e WPD ($P < 0,001$). Discussão: As proteínas do soro do leite apresentam grande potencial para controlar ou evitar doenças como a diabetes e a obesidade severa. Os valores do Índice de Lee, gordura epididimal, glicose e triglicérides foram menores no grupo WPD do que no grupo CAF no final do tratamento. Conclusão: Baixas doses de WPC são eficazes na redução da glicemia, triglicérides, controle do peso corporal, e podem ser utilizadas com alternativa nutricional em pacientes obesos, com sobrepeso ou normais para prevenção ou controle de distúrbios metabólicos e obesidade.

Palavras-chave: Dieta Protica. Dieta de Cafeteria. Obesidade. Síndrome Metabólica.

1-Universidade Alto Vale do Rio do Peixe-UNIARP, Caçador, Santa Catarina, Brasil.

ABSTRACT

Low dose of whey protein reduces of glucose, triglycerides and body weight control in rats wistar

Objective: The increasing incidence of obesity and metabolic diseases are the consequence of unbalanced diet. In this study, we evaluated the influence of low dose of whey protein concentrate (WPC) and cafeteria diet (CAF) on metabolic and biochemical parameters in rats. Methods: Wistar rats were divided into 3 groups: control group with standard diet (CTL), low dose of WPC (WPD) and cafeteria diet (CAF), diets were offered for 8 weeks. The body weight values, epididymal fat, Lee's index, glucose, triglycerides, total cholesterol and fractions, urea, creatinine, AST and ALT were measured. Results: There was significant reduction in glucose ($P < 0.05$), triglycerides ($P < 0.01$), body weight control and there was no increase in the Lee Index in the group ($P > 0.05$) WPD. The CAF group showed the opposite result WPD group, a significant increase in glucose ($P < 0.05$) enhanced weight gain ($P < 0.001$) increase in Lee index ($P < 0.001$), higher in relation to the epididymal fat CTL group ($P < 0.01$) and WPD ($P < 0.001$). The values of the index Lee, epididymal fat, glucose and triglycerides were lower in the group that the WPD CAF group at the end of treatment. Discussion: whey proteins have great potential to control or prevent diseases such as diabetes and severe obesity. The values of the index Lee, epididymal fat, glucose and triglycerides were lower in the group that the WPD CAF group at the end of treatment. Conclusion: Our results show that low doses of WPC are effective in reducing blood glucose, triglycerides, control body weight, and can be used with nutritional alternative in obese, overweight or normal for preventing or controlling metabolic disorders.

Key words: Protein Diet. Cafeteria Diet Obesity. Metabolic Syndrome.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, as proteínas do leite, principalmente caseína e whey protein (WP), têm ganhado destaque como adjuvantes na terapia nutricional.

O leite e seus componentes exercem efeito no controle glicêmico e podem ser usados como adjuvantes no gerenciamento de dietas de pacientes com diabetes tipo 2 (Panahi e colaboradores, 2014), pré-diabéticos e saudáveis (Hoefle e colaboradores, 2015).

Por outro lado, uma dieta de cafeteria, rica em gorduras ou hipercalórica conduz a quadros de hiperfagia e hiperleptinemia (Morris e colaboradores 2008), aumento do peso (Macedo e colaboradores, 2012) e da adiposidade em modelo animal (Estadella e colaboradores, 2011).

Assim, nós levantamos a hipótese de que uma baixa dose de WPC ingerida de maneira homogênea na dieta, em todas as refeições, pode promover o controle ou a diminuição do peso corporal em contraste com uma dieta altamente palatável.

Para testar esta hipótese, incorporamos 10% de WPC à dieta de ratos Wistar e comparamos com um modelo de obesidade induzida por dieta de cafeteria.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e grupos experimentais

Ratos Wistar machos, com 80 dias de idade e 200 a 250 g de peso na data da experimentação (n=24), foram randomizados e mantidos em gaiolas coletivas de polipropileno, 4 animais/gaiola (49 cm x 34 cm x 16 cm).

O ambiente em que as gaiolas permaneceram teve temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo de luminosidade claro/escuro de 12 horas (fase clara das 07h00min às 19h00min). Neste ambiente os animais receberam ração e água ad libitum (dieta padrão, dieta proteica ou dieta de cafeteria).

As experiências e procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Uso e Cuidado Animal Institucional da Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC (protocolo Nº 2015/004).

Medidas vigorosas foram realizadas para manter o bem-estar animal e minimizar

dor e desconforto dos animais de acordo com a Lei nº 6.638, de 08 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934). Neste experimento, utilizamos o número mínimo de animais necessário para produzir dados científicos fiáveis.

Delineamento experimental

Os animais foram aclimatados por 1 semana antes do início do experimento e posteriormente divididos em 3 grupos experimentais, previamente pesados: 1) Controle com dieta padrão (CTL, n=8) 2) Dieta com whey protein concentrado (WPD, n=8); 3) Dieta de cafeteria (CAF, n=8). Os animais permaneceram ingerindo água ad libitum durante todo o período experimental (8 semanas).

O grupo CTL recebeu dieta padrão para roedores, o grupo representado por WPD recebeu a dieta proteica contendo 10% de WPC (whey protein concentrado) e o grupo CAF recebeu dieta de cafeteria (60% de carboidratos, 20% de lipídios, proteínas 15% e 5% de outros constituintes).

Todos os grupos tiveram livre acesso à e dieta designada durante 24h/dia durante 8 semanas.

Dietas experimentais

A dieta padrão, Nuvilab CR-1 (NUVITAL®, Curitiba, PR, Brasil) fornece um conteúdo energético total de 2,93 kcal/g (informação proveniente do fabricante). Esta dieta é composta por 55% carboidratos, 22% de proteína, 4,5 % de lipídios e outros constituintes (vitaminas, fibras).

A dieta de cafeteria (dieta palatável com de alto teor calórico) consiste em cerca de 60% de carboidratos, 20% de lipídios, proteínas 15%, e 5% de outros constituintes (sódio, cálcio, vitaminas, minerais, conservantes, etc.), fornecendo um total de 4.186 kcal/g e 0,42 kcal/g (calculado com base em informações fornecidas pela indústria no rótulo da embalagem) de acordo com o proposto por Estadella e colaboradores (2004).

A dieta proteica foi composta por proteína representada por whey protein concentrado (PROBIÓTICA LABORATÓRIOS LTDA®, Santa Bárbara, SP, Brasil).

A proteína foi adquirida comercialmente de forma aleatória. Para administração da dieta proteica, a ração padrão para roedores (Nuvilab CR-1, NUVITAL®, Curitiba, PR, Brasil), foi enriquecida com 10% whey protein concentrado (WPC) ofertada na forma de pellets.

Parâmetros utilizados para controlar a eficácia do modelo de obesidade induzido por dieta hipercalórica

Um dia antes do início do tratamento com as dietas e no último dia do experimento, o peso e o comprimento naso-anal dos animais foi conferido.

As avaliações foram realizadas na condição de repouso para mensuração do Índice de Lee, que corresponde à relação entre a raiz cúbica do peso corporal (g) e o comprimento naso-anal (cm) dos animais multiplicado por 100 (Bernardis e Patterson, 1968).

No fim do experimento, o tecido adiposo epididimal foi dissecado e pesado manualmente utilizando balança semianalítica.

Preparo das amostras e ensaios bioquímicos

Após 8 semanas de tratamento, todos os animais foram profundamente anestesiados com uma mistura de 1:1 de Ketamina (75 mg/kg) e xilazina (15 mg/kg) administrada num volume de 1,5 ml/kg via i.p. para que fosse realizada a coleta sanguínea e, em seguida, centrifugado a 4000 r.p.m, sendo o soro isolado, armazenado e encaminhado para a realização das dosagens bioquímicas. Posteriormente, os animais foram submetidos à eutanásia para que o tecido adiposo epididimal fosse cirurgicamente removido.

Foram utilizados kits para dosagens bioquímicas, baseados em reações enzimáticas para diagnóstico in vitro. As análises foram realizadas no equipamento Analizador A25 da Bio Systems.

Os níveis séricos de glicose (GL), triglicerídeos (TG), Colesterol total (CT), Lipoproteína de alta densidade (HDL), Ureia, Creatinina, foram dosados e expressos em mg/dL. Os valores de Aspartato Amino Transferase (AST) e Alanina Amino Transferase (ALT) foram expressos em U/l. Os

valores de Lipoproteína de baixa densidade (LDL) e Lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), foram calculados através da equação de Friedewald e expressos em mg/dL (Friedewald, Levy e Fredrickson, 1972).

Análise estatística

Todos os dados são apresentados em média \pm desvio padrão. No início do experimento, os grupos passaram por teste de normalidade "Shapiro-Wilk normality test".

A significância das diferenças entre os valores médios das amostras foi determinada no mesmo grupo relacionando os valores basais e finais.

E, os valores obtidos no fim do experimento foram confrontados entre os grupos CTL, CAF, WPD comparados pelo software Graph Pad Prisma (versão 5.0; GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Os grupos experimentais foram verificados pela análise de uma via de variância (ANOVA) para grupos emparelhados, seguidos de post hoc Tukey utilizado para as comparações múltiplas de dados paramétricos.

Exceto para os dados de TG, que foram utilizadas comparações para dados não paramétricos. O nível de significância adotado foi $P \leq 0,05$.

RESULTADOS

Peso corporal, índice de lee e gordura epididimal

No presente estudo, todos os animais apresentaram ganho de peso quando comparados ao início do tratamento, contudo, o grupo CAF teve um ganho mais expressivo em relação ao peso inicial ($P < 0,001$) do que os grupos WPD e CTL ($P < 0,05$) de acordo com a Figura 1A.

Quando comparamos o final do tratamento entre os grupos CTL, WPD e CAF, a dieta CAF teve aumento de peso significativo comparado ao CTL ($P < 0,01$) e WPD ($P < 0,001$).

O grupo WPD comparado ao grupo controle (CTL) não apresentou aumento de peso significativo ($P > 0,05$), demonstrado na Figura 1C.

Para os valores obtidos através do Índice de Lee, houve aumento do índice no grupo CTL ($P < 0,01$) e CAF ($P < 0,001$). Já para o grupo WPD, não foi observado alteração ($P > 0,05$) em relação ao valor basal, representado na Figura 1B.

Quando comparamos o final do tratamento entre os grupos CTL, WPD e CAF, o grupo CAF apresentou um aumento no Índice de Lee comparado ao grupo CTL

($P < 0,01$) e WPD ($P < 0,01$), enquanto que o grupo WPD teve redução significativa em relação ao grupo controle ($P < 0,05$), como pode ser observado na Figura 1D.

Quanto à gordura epididimal, o grupo WPD teve diminuição comparada ao grupo CTL ($P < 0,05$) e CAF (0,001). Já o grupo CAF teve aumento em relação ao grupo CTL ($P < 0,01$), como representado na Figura 2A.

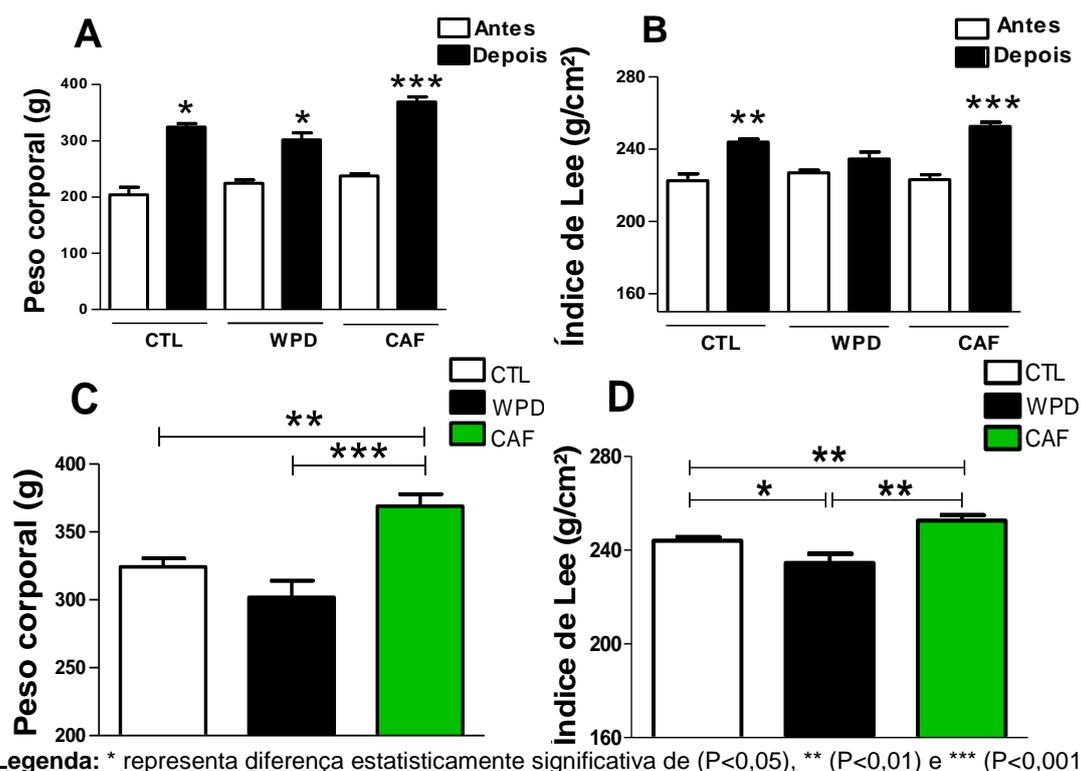


Figura 1 - Ganho de peso corporal e Índice de Lee. (A) Peso corporal e (B) Índice de Lee no antes e depois do tratamento com as dietas controle (CTL), com *whey protein* (WPD) e de cafeteria (CAF). (C) peso corporal e (D) Índice de Lee comparado no final do tratamento.

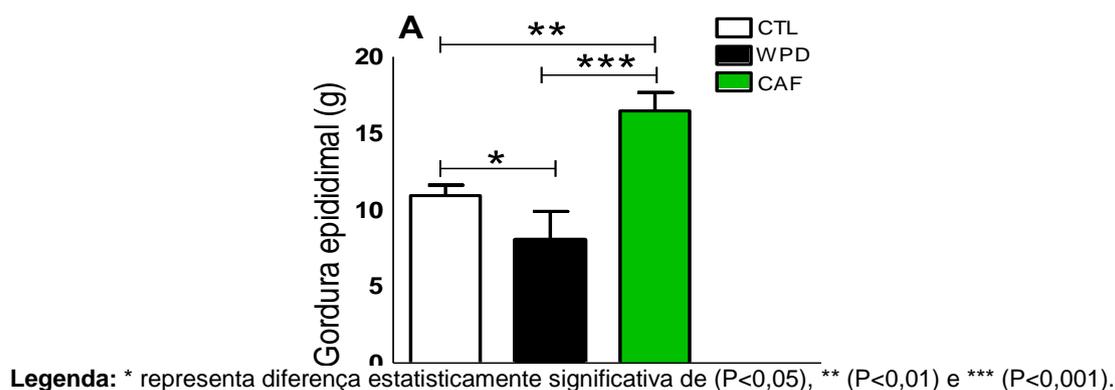


Figura 2 - Comparação da gordura epididimal entre os grupos CTL, WPD e CAF ao final do tratamento.

Glicose e triglicérides

Os valores de glicose plasmática (GL) em jejum diferiram entre o início e o fim do tratamento nos grupos CAF e WPD. O grupo CAF apresentou valores mais elevados de GL em relação ao valor basal ($P < 0,05$) e o grupo WPD mostrou redução ($P < 0,05$), demonstrado na Figura 3A.

Quando confrontamos o final do experimento entre os grupos CTL, WPD e CAF, o grupo CAF apresentou aumento nos valores de GL em relação ao grupo WPD ($P < 0,05$), enquanto que o grupo WPD apresentou uma redução nestes valores quando comparado ao grupo CTL ($P < 0,05$), como pode ser observado na Figura 3C.

Em relação aos valores de Triglicérides (TG), os grupos CTL e CAF não apresentaram diferença significativa quando comparados aos valores basais ($P > 0,05$), representado na Figura 3B.

Entretanto, os níveis de TG diminuíram significativamente no grupo WPD em relação aos valores obtidos no início do experimento ($P < 0,01$) (Figura 3B).

Quando comparamos o final do tratamento entre os grupos CTL, WPD e CAF, o grupo WPD teve os valores de TG reduzidos em relação ao grupo CTL ($P < 0,05$). Já o grupo CAF não apresentou mudança significativa quando comparado ao grupo WPD e CTL no fim do tratamento ($P > 0,05$) (Figura 3D).

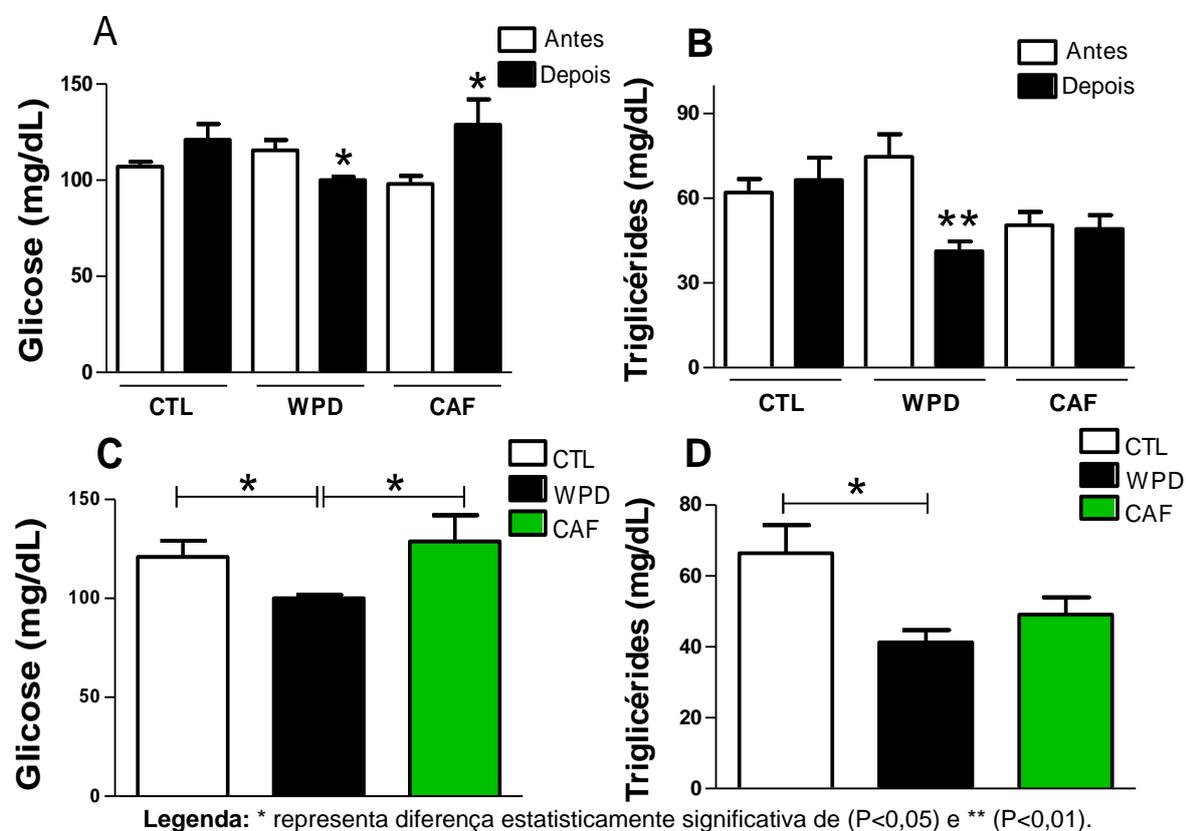


Figura 3 - (A) Glicose plasmática e (B) Triglicérides plasmático, antes e depois do tratamento com as dietas controle (CTL), com *whey protein* (WPD) e de cafeteria (CAF). (C) Glicose plasmática e (D) Triglicérides plasmáticas, comparados no fim do tratamento.

Colesterol total, HDL, LDL, Ureia, Creatinina, AST e ALT

Não houve diferença nos níveis de CT (colesterol total), HDL, LDL entre os valores basais e finais em nenhum grupo experimental ($P > 0,05$). Os valores de CT, HDL e LDL também não apresentaram diferença quando comparados entre os grupos CTL, CAF e WPD no fim do experimento ($P > 0,05$) (Dados não mostrados).

Em relação aos valores de ureia (URE), creatinina (CRE), AST e ALT, não encontramos diferenças entre os níveis basais e no fim do tratamento em nenhum grupo experimental ($P > 0,05$) (Dados não mostrados).

Os valores de URE, CRE, AST e ALT comparados entre os grupos CTL, CAF e WPD no fim do experimento, também não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) (Dados não mostrados).

DISCUSSÃO

No presente estudo expomos que a dieta com baixa dose de WPC (10%) ofertada de maneira homogênea na alimentação de roedores, é capaz de promover controle no ganho de peso corporal, reduzir a adiposidade e Índice de Lee.

Em contraste, demonstramos que a obesidade induzida pela dieta de cafeteria apresenta efeitos opostos à dieta com baixa dose de WPC. A dieta CAF aumenta o ganho de peso corporal, Índice de Lee e adiposidade durante 8 semanas de tratamento dietético, como já previsto por Estadella e colaboradores (2004).

Trabalhos anteriores que também utilizaram WP em modelo animal, relatam maior saciedade, decréscimo na ingestão de alimentos e do peso corporal (Tranberg e colaboradores, 2015), estando estes de acordo com os nossos resultados. Estudos como o realizado por Morris e colaboradores (2008), mostram que a dieta CAF apresenta efeito rápido sobre a ingestão alimentar logo nas primeiras horas de intervenção, e pode aumentar a ingestão em 50%, sugerindo acentuada hiperfagia. Nossos resultados sugerem que o aumento do peso observado no grupo CAF está relacionado com a ingestão energética elevada, maior resistência à leptina e estimulação de hormônios orexígenos. Enquanto no grupo WPD, o

oposto pode ter ocorrido, com a maior secreção de hormônios anorexígenos e indução da saciedade.

A fome e à saciedade são controladas por núcleos específicos do hipotálamo. O núcleo arqueado (ARC) é quem comanda a maior parte dos eventos relacionados ao consumo de alimentos. O ARC libera peptídeos orexígenos no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), como o peptídeo YY (PYY) e o peptídeo relacionado ao gene agouti (AgRP). O ARC também comanda a liberação de peptídeos de ação anorexígena na área lateral do hipotálamo (LHA), como o transcrito relacionado à cocaína e anfetamina (CART) e pró-ópio melanocortina (POMC) (Valassi e colaboradores, 2008).

Apesar de neste presente estudo não quantificarmos peptídeos e hormônios hipotalâmicos, experimentos anteriores demonstram diferenças nas respostas e estímulos entre proteínas e gorduras. Por exemplo, dietas com alta concentração de gorduras aumentam os níveis de leptina plasmáticos (McAllan e colaboradores, 2013).

A leptina é hormônio produzido principalmente pelos adipócitos, e sinaliza à núcleos hipotalâmicos sobre a quantidade de gordura corporal. Níveis elevados de leptina induzem saciedade e reduzem a ingestão alimentar (Lustig, 2001). Curiosamente, pacientes obesos têm a sinalização da leptina no ARC severamente diminuída (Münzberg; Flier; Bjorbaek, 2004).

A dieta ofertada ao grupo CAF é rica em gorduras e a exposição dos roedores a esta dieta provavelmente aumentou os níveis de leptina neste grupo. Ao longo das semanas, o grupo CAF pode ter se tornado leptino-resistente, pois, de acordo com Heymsfield e colaboradores (1999), pacientes obesos apresentam resistência às ações da leptina e menor saciedade diante quantidades elevadas de gordura (Brennan e colaboradores, 2012).

Este quadro resulta em hiperfagia e aumenta a ingestão alimentar, ganho de peso e a gordura corporal, como verificado em nossos resultados.

Outro sistema, denominado endocanabinoide (EC), atua a nível central na ingestão alimentar. No cérebro, existem receptores canabinoides denominados CB1 e CB2. Os receptores CB1 são expressos no sistema nervoso central (SNC) (Matsuda e

colaboradores, 1990) em núcleos do hipotálamo que controlam ingestão de alimentos (Cota e colaboradores, 2003) e reduzem a atividade da leptina (Zhou; Sherman 2004). Níveis elevados de endocanabinoides (ECb) estimulam a atividade do sistema dopaminérgico corticomesolímbico e são mediadores do sistema-recompensa (Gessa e colaboradores, 1998).

Os efeitos do sistema EC na regulação do apetite são evidentes quanto ao estímulo da ingestão de alimentos altamente palatáveis (Ting e colaboradores, 2015), sendo que agonistas dos receptores CB1 estimulam a ingestão destes alimentos (Gallate e colaboradores, 1999).

Estes estudos mostram que a ativação de receptores CB1 pode estar relacionada com o aumento do ganho de peso e obesidade encontrada em nossos dados. Autores como Sanchis-Segura e colaboradores (2004) e Trillou e colaboradores (2004) reforçam estes achados ao mostrarem que camundongos CB1-KO (camundongos knockout para CB1) são magros e resistentes à obesidade induzida por dieta, e exibem comportamento indiferente na ingestão de alimentos saborosos, calóricos ou padrão.

Além disso, estudos apontam que o sistema EC em níveis alterados no hipotálamo e tecidos periféricos exercem efeitos subsequentes no metabolismo da glicose e lipídios (Vähätalo e colaboradores, 2015) que podem explicar, em parte, o aumento dos níveis de glicose na dieta CAF ofertada em nosso estudo.

Por outro lado, a dieta experimental com 10% de WPC promoveu redução do peso e gordura epididimal. Trabalhos como o de Barterham e colaboradores (2006) mostram que a ingestão de proteínas eleva os níveis plasmáticos do PYY (anorexígeno), estimula a colecistocinina (CCK) e diminui os níveis de grelina (Brennan e colaboradores, 2012).

O PYY (3-36) e a CCK são importantes para a sensação de saciedade. Seus níveis aumentam após a ingestão alimentar induzem o término de uma refeição (Chelikani e colaboradores, 2005).

Já a grelina é um peptídeo orexígeno potente, que estimula a ingestão de alimentos, a adiposidade e ganho de peso corporal (Cummins e colaboradores 2001). Seus níveis estão elevados no jejum prolongado e

antes das refeições (Tschöp, Smile e Heiman 2000) apresentando efeitos opostos à leptina.

Se por um lado baixas doses de WPC podem estimular o aumento de CCK e PYY, dietas CAF regulam negativamente conteúdo de CCK central e a expressão de RNAm para receptores de leptina (Morris e colaboradores, 2008).

Estas ações explicam os efeitos opostos das nossas dietas experimentais. A dieta CAF eleva o consumo alimentar, induz o ganho de peso e adiposidade, enquanto a dieta WPD promove maior saciedade e reduz a ingestão alimentar, prevenindo o ganho de peso e a adiposidade acentuada.

Neste trabalho, mostramos redução da GL na dieta WPD. Experimentos clínicos utilizando pré-cargas de WP mostram que ocorre aumento nas concentrações do peptídeo semelhante a glucagon 1 (Glucagon-like peptide-1, GLP-1) e PYY, promovendo saciedade (Tahavorgar e colaboradores, 2014).

O GIP-1 é uma incretina, liberada em resposta a ingestão de alimentos, que apresenta efeitos anorexígenos e aumenta a síntese e secreção de insulina glicose-dependente, além de modular a secreção de glucagon, atrasando o esvaziamento gástrico (Meeran e colaboradores, 1999).

Estudos prévios, realizados com a ingestão de β -Lactoglobulina, Lactoferrina e α -Lactalbumina (glicoproteínas presentes na WP), mostram que há aumento na produção de células enteroendócrinas e na secreção de GLP-1. A α -lactalbumina eleva os níveis de GLP-1, mas tem pouco impacto sobre outra incretina, o peptídeo insulínico dependente de glicose (glucose-dependent insulintropic peptide, GIP) (Gillespie e colaboradores, 2015).

A nível gastrointestinal, a WP é hidrolisada, e libera peptídeos que atuam como inibidores de DPP-4 (Dipeptidil-peptidase-4, enzima que degrada GLP-1 e GIP) e pode ser utilizada como uma estratégia natural para inibir esta enzima (Lacroix, Li-Chan e CY 2012).

Se a dieta com WP pode elevar os níveis de GLP-1, GIP e reduzir a DPP-4, temos aqui um alvo para agentes farmacológicos auxiliarem no controle de síndromes metabólicas (Nielsen, Young e Parkes 2004).

Estudos como o de Morato e colaboradores (2013), esclarecem, a nível molecular, parte do efeito insulínico da WP. Neste experimento, o autor mostra que tanto WP quanto WPH (whey protein hidrolisada) são capazes de aumentar a translocação de GLUT-4 para a membrana plasmática e a concentração de glicogênio.

Animais que ingerem alto teor de gordura na dieta apresentam menor quantidade de GLUT-2 no hipotálamo e apresentam aumento nos níveis de pAMPK (Adenosina Monofosfato Quinase Fosforilada) e de glicose no núcleo ventromedial, sugerindo falha na detecção da glicose (De Andrade e colaboradores, 2015).

No presente experimento, nós ofertamos a WPC incorporada na dieta padrão dos roedores e, como resultado, houve redução da GL. Além da maneira de ingestão da WP interferir nos efeitos insulínico, a dose (Akhavan e colaboradores, 2010), o tipo de proteína (Bendtsen e colaboradores, 2014) e o tipo de WP também parecem influenciar esta resposta.

Proteínas de rápida absorção tendem ao efeito menos extenso da insulina e vice-versa (Ang e colaboradores, 2012).

Akahavan e colaboradores, (2010) demonstrou que a WPH não reduz a glicose pós-prandial comparado à WPC, enquanto WPI (whey protein isolada) aumenta as concentrações de insulina plasmática em pessoas pré-diabéticas (Hoefle e colaboradores (2015) e restaura a capacidade de secreção de insulina de células β pancreáticas em camundongos que não expressam a leptina (ob/ob), obesos e diabéticos (Gaudel e colaboradores, 2013).

A forma de ingestão e a dose proposta neste estudo aponta êxito comparada à outras formas de ingestão documentadas usualmente. E pode ser uma estratégia de fácil adesão se transportada para estudos clínicos.

Neste experimento, nós também verificamos os níveis de CT, HDL e LDL. Contudo, não observamos nenhuma mudança nesses parâmetros em 8 semanas de tratamento dietético em nenhum grupo experimental.

Porém, alta dose de WP (50%), parece exercer efeito de redução no colesterol plasmático, mas não tem efeito sobre o peso corporal, homeostase energética e expressão

de proteínas desacopladoras quando comparados a dietas com 20% de proteínas e baixa ingestão de gorduras (Noatsch e colaboradores, 2011).

A dieta em questão apresenta 10% de WPC, e não foi eficaz na redução do CT e frações, mas aponta melhora sobre o peso corporal e controle energético semelhante as doses de 20% documentadas.

Sendo assim, baixas doses de WP parecem ser ineficazes quanto à redução do CT e frações, entretanto, se mostram mais eficientes na redução e controle do peso corporal.

Em contrapartida, outros autores mostram que dietas com alto teor de proteínas também não foram capazes de reduzir os níveis de CT plasmático, contudo, podem elevar os níveis de HDL (Pasiakos, Lieberman e Fulgoni 2015).

Trabalhos prévios também mostram que a WPC, promove redução da gordura hepática (Bortolotti e colaboradores, 2011; Ooi e colaboradores, 2015).

Contudo, os mecanismos exatos de como as proteínas do soro do leite podem ou não interferir no perfil lipídico ainda permanecem obscuros.

Neste trabalho, nós verificamos os níveis de marcadores hepáticos e renais plasmáticos. Entretanto, não percebemos alterações nos níveis destes marcadores.

Outros estudos mostram que a WP exerce efeito hepatoprotetor em dano induzido por D-Galactosamina, diminuindo AST, ALT e peroxidação lipídica (Jonker e colaboradores, 2014).

Estudos também apresentam benefícios da WP sobre o estresse oxidativo, ocasionando aumento nos níveis de glutathione (Gad e colaboradores, 2011).

Estes achados sugerem que a WP pode promover efeitos benéficos a nível hepático, em conformidade com os nossos achados, onde não encontramos alterações nos níveis de AST, ALT, ureia e creatinina.

Nossos achados revelam que com apenas 10% de WPC ocorre a redução da glicose plasmática de jejum, redução nos níveis de triglicerídeos e controle do peso corporal em um curto período (8 semanas).

Estudos clínicos utilizando este mesmo modelo dietético devem ser executados. Entretanto, estes dados sugerem que baixas doses de WPC ingeridos de

maneira homogênea na dieta em todas as refeições, pode ser uma estratégia nutricional relevante no tratamento de pacientes pré-dispostos a obesidade, obesos e pacientes pré-diabéticos ou com síndrome metabólica já instalada.

Contudo, é importante salientar que algumas limitações no presente estudo devem ser levadas em consideração. Nós não avaliamos, por exemplo, os hormônios que conduzem quadros de fome e saciedade antes e após a intervenção dietética.

Por esse motivo, é prudente ressaltar que estudos adicionais devem ser realizados no intuito de reforçar os achados aqui apresentados.

REFERÊNCIAS

- 1-Akhavan, T.; Lohovyy, B. L.; Brown, P. H.; Cho, C. E.; Anderson, G. H. Effect of premeal consumption of whey protein and its hydrolysate on food intake and postmeal glycemia and insulin responses in young adults. *The American journal of clinical nutrition*. Vol. 91. Núm. 4. p.966-975. 2010.
- 2-Ang, M.; Müller, A. S.; Wagenlehner, F.; Pilatz, A.; Linn, T. Combining protein and carbohydrate increases postprandial insulin levels but does not improve glucose response in patients with type 2 diabetes. *Metabolism*. Vol. 61. Núm. 12. p.1696-1702. 2012.
- 3-Bernardis, L. L.; Patterson, B. D. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *Journal of Endocrinology*. Vol. 40. Núm. 4. p.527-528. 1968.
- 4-Bortolotti M.; Maiolo E.; Corazza M.; Van Dijke E.; Schneiter P.; Boss A.; Carrel G.; Giusti V.; Lê K.A.; Chong D.G. Q.; Buehler T.; Kreis R.; Boesch C.; Tappy L. Effects of a whey protein supplementation on intrahepatocellular lipids in obese female patients. *Clinical Nutrition*. Vol. 30. Núm. 4. p.494-498. 2011.
- 5-Brennan, I. M.; Luscombe-Marsh, N. D.; Seimon, R. V.; Otto, B.; Horowitz, M.; Wishart, J. M.; Feinle-Bisset, C. Effects of fat, protein, and carbohydrate and protein load on appetite, plasma cholecystokinin, peptide YY, and ghrelin, and energy intake in lean and obese men. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. Vol. 303. Núm. 1. p.G129-G140. 2012.
- 6-Chelikani, P. K.; Haver, A. C.; Heidelberger, R. D. Intravenous infusion of peptide YY (3-36) potently inhibits food intake in rats. *Endocrinology*. Vol. 146. Núm. 2. p.879-888. 2005.
- 7-Cota, D.; Marsicano, G.; Lutz B.; Vicennati, V.; Stalla, G.K.; Pasquali, R.; Pagotto, U. Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *International journal of obesity*. Vol. 27. Núm. 3. p.289-301. 2003.
- 8-Cummings, D. E.; Purnell, J. Q.; Frayo, R. S.; Schmidova, K.; Wisse, B. E.; Weigle, D. S. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*. Vol. 50. Núm. 8. p.1714-1719. 2001.
- 9-De Andrade, I. S.; Zemdegs, J. C. S.; de Souza, A. P.; Watanabe, R. L. H.; Telles, M. M.; Nascimento, C. M. O.; Ribeiro, E. B. Diet-induced obesity impairs hypothalamic glucose sensing but not glucose hypothalamic extracellular levels, as measured by microdialysis. *Nutrition & diabetes*. Vol. 5. Núm. 6. p.162. 2015.
- 10-Estadella, D.; Oyama, L. M.; Dâmaso, A. R.; Ribeiro, E. B.; Do Nascimento, C. M. O. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*. Vol. 20. Núm. 2. p.218-224. 2004.
- 11-Estadella D.; Oyama L. M.; Bueno A. A.; Habitante C. A.; Souza G. I.; Ribeiro E. B.; Motovama C. S. M.; Oller C. M. N. A palatable hyperlipidic diet causes obesity and affects brain glucose metabolism in rats. *Metabolism*. Vol. 16. p.18-20. 2011.
- 12-Friedewald, W. T.; Levy, R. I.; Fredrickson, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*. Vol. 18. Núm. 6. p.499-502. 1972
- 13-Gad, A. S.; Khadrawy, Y.; El-Nekeety, A.; Mohamed, S. R.; Hassan, N. S.; Abdel-Wahhab, M. Antioxidant activity and

hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats. *Nutrition*. Vol. 27. Núm. 5. p.582-589. 2011.

14-Gallate, J. E.; Saharov, T.; Mallet, P. E.; McGregor, I. S. Increased motivation for beer in rats following administration of a cannabinoid CB 1 receptor agonist. *European journal of pharmacology*. Vol. 370. Núm. 3. p.233-240. 1999.

15-Gaudel, C.; Nongonierma, A. B.; Maher, S.; Flynn, S.; Krause, M.; Murray, B. A.; Newsholme, P. A whey protein hydrolysate promotes insulinotropic activity in a clonal pancreatic β -cell line and enhances glycemic function in ob/ob mice. *The Journal of nutrition*. Vol. 143. Núm. 7. p.1109-1114. 2013.

16-Gessa, G.; Melis, M.; Muntoni, A.; Diana, M. Cannabinoids activate mesolimbic dopamine neurons by an action on cannabinoid CB 1 receptors. *European journal of pharmacology*. Vol. 341. Núm. 1. p.39-44. 1998.

17-Gillespie, A. L.; Calderwood, D.; Hobson, L.; Green, B. D. Whey proteins have beneficial effects on intestinal enteroendocrine cells stimulating cell growth and increasing the production and secretion of incretin hormones. *Food Chemistry*. Vol. 189. p.120-128. 2015.

18-Hoefle, A. S.; Bangert, A. M.; Stamford, A.; Gedrich, K.; Rist, M. J.; Lee, Y.; Skurk T.; Daniel H. Metabolic Responses of Healthy or Prediabetic Adults to Bovine Whey Protein and Sodium Caseinate Do Not Differ. *The Journal of nutrition*. Vol. 145. Núm. 3. p.467-475. 2015.

19-Heymsfield, S. B.; Greenberg, A. S.; Fujioka, K.; Dixon, R. M.; Kushner, R.; Hunt, T.; Lunina J. A.; Patane J.; Self B.; Hunt P.; McCamish M. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *Jama*. Vol. 282. Núm. 16. p.1568-1575. 1999.

20-Jonker, R.; Deutz, N. E.; Erbland, M. L.; Anderson, P. J.; Engelen, M. P. Hydrolyzed casein and whey protein meals comparably stimulate net whole-body protein synthesis in COPD patients with nutritional depletion without an additional effect of leucine co-

ingestion. *Clinical Nutrition*. Vol. 33. Núm. 2. p.211-220. 2014.

21-Lacroix, I. M. E.; Li-Chan, E. C. Y. Dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity of dairy protein hydrolysates. *International Dairy Journal*. Vol. 25. Núm. 2. p.97-102. 2012.

22-Lustig, R. H. The neuroendocrinology of obesity. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, Vol. 30. Núm. 3. p. 765-785, 2001.

23-Macedo, I. C.; Medeiros, L. F.; Oliveira, C.; Oliveira, C. M.; Rozisky, J. R.; Scarabelot, V. L.; Souza A.; Silva F. R.; Santos V. S.; Cionato S. G.; Caumo W.; Torres I. L. S.; Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. *Peptides*. Vol. 38. Núm. 1. p.189-196. 2012.

24-Matsuda, L. A.; Lolait, S. J.; Brownstein, M. J.; Young, A. C.; Bonner, T. I. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*. Vol. 346. Núm. 6284. p.561-564. 1990.

25-McAllan, L.; Keane, D.; Schellekens, H.; Roche, H. M.; Korpela, R.; Cryan, J. F.; Nilaweera, K. N. Whey protein isolate counteracts the effects of a high-fat diet on energy intake and hypothalamic and adipose tissue expression of energy balance-related genes. *British Journal of Nutrition*. Vol. 110. Núm. 11. p.2114-2126. 2013.

26-Meeran, K.; O'Shea, D.; Edwards, C. M. B.; Turton, M. D.; Heath, M. M.; Gunn, I.; Abusnana, S.; Rossi, M.; Small, C. J.; Goldstone, A. P.; Taylor, G. M.; Sunter, D.; Steere, J.; Choi, S. J.; Ghtei, M. A.; Bloom, S. R. Repeated Intracerebroventricular Administration of Glucagon-Like Peptide-1-(7–36) Amide or Exendin-(9–39) Alters Body Weight in the Rat 1. *Endocrinology*. Vol. 140. Núm. 1. p.244-250. 1999.

27- Morato, P. N.; Lollo, P. C.; Moura, C. S.; Batista, T. M.; Camargo, R. L.; Carneiro, E. M.; Amaya-Farfan, J. Whey protein hydrolysate increases translocation of GLUT-4 to the plasma membrane independent of insulin in wistar rats. *PloS one*. Vol. 8. Núm. 8. p.7. 2013.

28-Morris, M. J.; Chen, H.; Watts, R.; Shulkes, A.; Cameron-Smith, D.; Brain neuropeptide Y and CCK and peripheral adipokine receptors: temporal response in obesity induced by palatable diet. *International journal of obesity*. Vol. 32. Núm. 2. p.249-258. 2008.

29-Münzberg, H.; Flier, J. S.; Bjørbæk, C. Christian. Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced obese mice. *Endocrinology*. Vol. 145. Núm. 11. p.4880-4889. 2004.

30-Nielsen, L. L.; Young, A. A.; Parkes, D. G. Pharmacology of exenatide (synthetic exendin-4): a potential therapeutic for improved glycemic control of type 2 diabetes. *Regulatory peptides*, Vol. 117. Núm. 2. p.77-88, 2004.

31-Noatsch, A.; Petzke, K. J.; Millrose, M. K.; Klaus, S. Body weight and energy homeostasis was not affected in C57BL/6 mice fed high whey protein or leucine-supplemented low-fat diets. *European journal of nutrition*. Vol. 50. Núm. 6. p.479-488. 2011.

32-Ooi, E. M.; Adams, L. A.; Zhu, K.; Lewis, J. R.; Kerr, D. A.; Meng, X.; Solah V. Devine A.; Binns C.W.; Prince, R. L. Consumption of a whey protein-enriched diet may prevent hepatic steatosis associated with weight gain in elderly women. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. Vol. 25. Núm. 4. p.388-395. 2015

33-Panahi, S.; El Khoury, D.; Kubant, R.; Akhavan, T.; Luhovyy, B. L.; Goff, H. D.; Anderson, G. H. Mechanism of action of whole milk and its components on glycemic control in healthy young men. *The Journal of nutritional biochemistry*, Vol. 25. Núm. 11. p.1124-1131. 2014.

34-Pasiakos S. M.; Lieberman H. R.; Fulgoni V. L. Higher-Protein Diets Are Associated with Higher HDL Cholesterol and Lower BMI and Waist Circumference in US Adults. *The Journal of nutrition*. Vol. 25. Núm 1. p.1124-1131. 2015.

35-Sanchis-Segura, C.; Cline, B. H.; Marsicano, G.; Lutz, B.; Spanagel, R. Reduced sensitivity to reward in CB1 knockout mice. *Psychopharmacology*. Vol. 176. Núm 2. p.223-232. 2004.

36-Tahavorgar, A.; Vafa, M.; Shidfar, F.; Gohari, M.; Heydari, I. Whey protein preloads are more beneficial than soy protein preloads in regulating appetite, calorie intake, anthropometry, and body composition of overweight and obese men. *Nutrition Research*. Vol. 34. Núm. 10. p.856-861. 2014.

37-Ting, C. H.; Chi, C. W.; Li, C. P.; Chen, C. Y. Differential modulation of endogenous cannabinoid CB1 and CB2 receptors in spontaneous and splice variants of ghrelin-induced food intake in conscious rats. *Nutrition*. Vol. 31. Núm. 1. p.230-235. 2015.

38-Trillou, C. R.; Delgorge, C.; Menet, C.; Arnone, M.; Soubrie, P. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *International journal of obesity*. Vol. 28. Núm. 4. p.640-648. 2004.

39-Tranberg, B.; Madsen, A. N.; Hansen, A. K.; Hellgren, L. I. Whey-reduced weight gain is associated with a temporary growth reduction in young mice fed a high-fat diet. *The Journal of nutritional biochemistry*. Vol. 26. Núm. 1. p.9-15. 2015.

40-Tschöp, M.; Smiley, D. L.; Heiman, M. L. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. Vol. 407. Núm. 6806. p. 908-913, 2000.

41-Vähätalo, L. H.; Ruohonen, S. T.; Mäkelä, S.; Ailanen, L.; Penttinen, A. M.; Stormi, T.; Kauko T.; Piscitelli F.; Silvestri C.; Savontaus E.; Di Marzo V. Role of the endocannabinoid system in obesity induced by neuropeptide Y overexpression in noradrenergic neurons. *Nutrition & diabetes*. Vol. 5. Núm. 4. p.151. 2015.

42-Valassi, E.; Scacchi, M.; Cavagnini, F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*. Vol. 18. Núm. 2. p.158-168. 2008.

43-Zhou, D.; Shearman, L. P. Voluntary exercise augments acute effects of CB1-receptor inverse agonist on body weight loss in obese and lean mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. Vol. 77. Núm. 1. p.117-125. 2004.

Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento
ISSN 1981-9919 versão eletrônica

Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício

w w w . i b p e f e x . c o m . b r - w w w . r b o n e . c o m . b r

2-Universidade do Oeste de Santa Catarina-
UNOESC, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil.

E-mails dos autores:

franzenjaqueline@gmail.com

jurgrvaz@hotmail.com

vilmair@uniarp.edu.com

bitencourtm@Gmail.com

Endereço para correspondência:

Jaqueline Maisa Franzen, Rua Victor Baptista

Adami, nº 789, Caçador, Santa Catarina.

Recebido para publicação em 27/09/2015

Aceito em 20/02/2016