

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

KAROLINE RODRIGUES PASQUALOTTO

**A INFLUÊNCIA DA CASEÍNA NAS ALTERAÇÕES HEPÁTICAS E CARDÍACAS
EM RATOS SUBMETIDOS A UMA DIETA DE CAFETERIA**

PONTA GROSSA – PR

2020

KAROLINE RODRIGUES PASQUALOTTO

A INFLUÊNCIA DA CASEÍNA NAS ALTERAÇÕES HEPÁTICAS E CARDÍACAS EM
RATOS SUBMETIDOS A UMA DIETA DE CAFETERIA

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Dionízia Xavier Scomparin.

Coorientador: Prof. Dr. Mario Augusto Cray da Costa.

PONTA GROSSA

2020

Pasqualotto, Karoline Rodrigues

P284 A influência da caseína nas alterações hepáticas e cardíacas em ratos submetidos a uma dieta de cafeteria: efeito da suplementação com caseína em ratos obesos / Karoline Rodrigues Pasqualotto. Ponta Grossa, 2020.

81 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Atenção Interdisciplinar em Saúde), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Dionízia Xavier Scomparin. Coorientador:
Prof. Dr. Mario Augusto Cray da Costa.

1. Caseína. 2. Obesidade. 3. Proteína. 4. Suplementação. 5. Obesos. I. Scomparin, Dionízia Xavier. II. Costa, Mario Augusto Cray da. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Atenção Interdisciplinar em Saúde. IV.T.

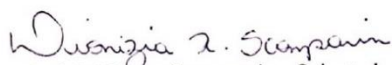
CDD:616.39

KAROLINE RODRIGUES PASQUALOTTO

**A INFLUÊNCIA DA CASEÍNA NAS ALTERAÇÕES HEPÁTICAS E
CARDÍACAS EM RATOS SUBMETIDOS A UMA DIETA DE
CAFETERIA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde na
Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Atenção Interdisciplinar em Saúde.

Ponta Grossa, 17 de fevereiro de 2020.



Profa. Dra. Dionizia Xavier Scomparin – Orientadora
Doutora em Ciências Biológicas
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Profa. Dra. Ligia Nadal Zardo
Doutora em Odontologia
CESCAGE



Profa. Dra. Márcia Thais Pochapski
Doutora em Odontologia
Universidade Estadual de Ponta Grossa

AGRADECIMENTOS

Sempre achei essa a pior parte da tese para escrever, talvez porque a vida não se coloca em análise de regressão e não é pelo *valor p* que descobrimos a significância das pessoas na nossa trajetória.

Deus é poder depois de muito errar! E hoje eu sei que Deus tem um plano perfeito para mim. Compreendo que nada nessa vida é por acaso e que o seu poder é imenso. Simplesmente lhe agradeço por ter piedade da minha pessoa e me amar tanto, todos os dias.

Como disse Fernando Guimarães: “O importante não é chegar até aqui, mas ser. E ser é uma ciência delicada de pequenas e grandes observações. Se não executamos essas observações, não chegamos a ser, apenas existimos”.

Agradeço infinitamente aos meus pais, por me terem dado educação, valores e por me amarem incondicionalmente, sempre me apoiando nas minhas escolhas e acreditando que eu vou conseguir! A vocês que, muitas vezes, renunciaram aos seus sonhos para que eu pudesse realizar o meu, partilho a alegria deste momento. Ao meu esposo, com quem eu sei que passarei por muitos e muitos momentos de felicidade como essa e que é a pessoa que a vida escolheu para ser meu companheiro nas horas boas e ruins, que muitas vezes acordou cedo pra ir comigo fazer a gavagem nos animais, ou tarde da noite para deixar os animais em jejum, por vezes fez o almoço, a janta, para que eu pudesse estudar, que finge ser plateia para eu ensaiar e que me tranquiliza dizendo: “calma, a tua hora vai chegar!”.

Minha gratidão especial a Prof^ª. Dr. Dionízia Xavier Scomparin minha orientadora, e sobretudo, uma querida e grande amiga, pela pessoa e profissional que é. Obrigada pela sua dedicação, pela contribuição de seus conhecimentos e sugestões na orientação desta dissertação, por sempre ter acreditado e depositado sua confiança e amizade em mim. Sem sua orientação, apoio, confiança e amizade em todo caminho percorrido até aqui, nada disso seria possível. Ao meu amigo Marcelo Paulo Bueno da Silva, técnico do laboratório de fisiologia, que todos os dias, durante 60 dias, fez a gavagem durante a semana nos animais pra mim; aos meus Ic's que muito me ajudaram em todas as etapas e principalmente nos dias de sacrifício, inclusive até altas horas, Janaini Brunoski, Gabriel Cordeiro, Isabelle Vollero Manosso, Sandra Grzygorczyk, Melanie Kok, Lorena Benvenuto, Amanda Roderjan Cray da Costa Filha; não tenho palavras para agradecer, sem vocês não teria pesquisa, nem resultados, muito menos dissertação. A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa, muito. Obrigada!

RESUMO

A ingestão de produtos lácteos vem sendo associada a benefícios em parâmetros relacionados à obesidade e síndrome metabólica. A caseína e seus hidrolisados enzimáticos possuem várias propriedades funcionais desejáveis e, por isto, há grande interesse em sua utilização em maior escala na indústria de alimentos. O presente trabalho testou o efeito da suplementação com caseína sobre características antropométricas: circunferência abdominal, peso corporal final, evolução do peso corporal, Índice de Lee, consumo alimentar, gordura perigonadal, mesentérica e retroperitoneal, índice de adiposidade, parâmetros metabólicos e alterações histopatológicas no fígado e coração dos ratos. No total foram utilizados 96 ratos albinos da raça Wistar (*Rattus norvegicus*), sendo 48 fêmeas e 48 machos com 30 dias de vida, onde os sexos foram divididos em dois grupos experimentais. O grupo Fêmeas dieta de Cafeteria (FDC) e fêmeas controle (FC) e o grupo machos dieta de cafeteria (MDC) e machos controle (MC), e cada um destes grupos foram divididos em suplementados com caseína (FDCC; MDCC; FCC; MCC) e não suplementados (FDC; FC; MDC; MC). A dieta de cafeteria foi ofertada *ad libitum* diariamente ao grupo DC (dieta de cafeteria) a partir do 30º dia de vida. Aos 60 dias de vida os grupos MDCC, MCC, FDCC, FCC iniciaram a suplementação por 30 dias com caseína pelo método de gavagem. Avaliando a circunferência abdominal, o peso corporal final, a evolução do peso corporal e o índice de Lee observou-se diferença significativa no grupo FDC quando comparado ao grupo FC. Observa-se um menor ganho de peso na evolução corporal apenas no grupo FCC em relação ao grupo FC, com uma diferença significativa de $p < 0,05$. As médias das gorduras nos machos repetiu um padrão das fêmeas e também apresentou diferença significativa quando comparados os grupos dieta de cafeteria e controle. Se comparado o grupo MDC com o grupo MDCC, a gordura retroperitoneal do grupo MDCC diminuiu, mostrando diferença significativa, e nas fêmeas a gordura mesentérica mostrou diferença significativa, diminuindo quando comparado o grupo FDCC com o grupo FDC. O índice de adiposidade mostrou-se menor no grupo FDCC em relação ao grupo FDC, com $p < 0,05$. E ao analisarmos o efeito da dieta de cafeteria podemos observar que os grupos da dieta tiveram uma média significativamente maior que os grupos controle. A ingestão energética foi significativamente maior tanto nas fêmeas quanto nos machos que receberam dieta de cafeteria (Fêmeas: 187,6 kcal/animal/dia; Machos: 195,4 Kcal/animal/dia) em relação ao grupo controle (Fêmeas: 112,2 kcal/animal/dia; Machos: 160,4 Kcal/animal/dia), com $p < 0,05$. No teste intraperitoneal de resistência à insulina ao analisarmos a área sob a curva as ratas do grupo dieta de cafeteria mostraram uma resistência à insulina significativamente maior que as ratas controle. O grupo dieta de cafeteria apresentou maior glicemia no ponto após a administração da carga de glicose (30 minutos) com média $176,9 \pm 68,7$ mg, quando realizado o teste de tolerância a glicose. Nos demais pontos não houve diferença estatisticamente significativa. Quando se observa a área sob a curva, o efeito da caseína foi significativo no grupo FDCC, quando comparado ao grupo FDC. Ao analisar os parâmetros bioquímicos, os níveis triglicéridos do grupo FDC foram significativamente maiores em relação ao grupo FC. Os níveis de HDL-c mostraram-se estatisticamente maiores para as FC em relação ao grupo FCC. Os grupos suplementados com caseína mostraram uma redução na maioria das enzimas hepáticas, apresentando uma significância de $p = 0,01$ para a enzima TGP quando comparado o grupo controle das fêmeas (FC) com o grupo controle suplementado (FCC) O peso do fígado e coração foram maiores significativamente nas FDC do que nas FC e os machos apenas o peso do coração foi significativamente maior no grupo MDC quando comparado ao MC. Não foram observadas alterações histológicas nos órgãos. A caseína parece ser promissora em animais sob condições fisiológicas, uma vez que esta exerceu efeito estatisticamente significativo sobre o ganho de peso, índice de adiposidade e

quantidade de tecido adiposo, a enzima TGP e no teste de tolerância a glicose. Portanto, estudos adicionais devem ser realizados em um maior período para verificação de sua possível ação no aumento da saciedade, controle da massa corporal e de taxas metabólicas e, assim, podendo servir como recurso nutricional importante para o tratamento e prevenção de doenças metabólicas.

Palavras-chave: Caseína. Obesidade. Índice de adiposidade. Proteínas. Dieta de cafeteria.

ABSTRACT

Intake of dairy products has been associated with benefits in parameters related to obesity and metabolic syndrome. Casein and its enzymatic hydrolysates have several desirable functional properties and, therefore, there is great interest in their use on a larger scale in the food industry. The present work tested the effect of casein supplementation on anthropometric characteristics: abdominal circumference, final body weight, evolution of body weight, Lee's index, food consumption, perigonadal, mesenteric and retroperitoneal fat, adiposity index, metabolic parameters and histopathological changes in liver and heart of rats. In total, 96 Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were used, 48 females and 48 males 30 days old, where the sexes were divided into two experimental groups. The Cafeteria diet females (FDC) and control females (FC) group and the cafeteria diet males (MDC) and control males (MC) group, and each of these groups were divided into casein supplemented (FDCC; MDCC; FCC; MCC) and not supplemented (FDC; FC; MDC; MC). The cafeteria diet was offered ad libitum daily to the DC group (cafeteria diet) from the 30th day of life. At 60 days of life, the groups MDCC, MCC, FDCC, FCC started supplementation for 30 days with casein using the gavage method. Evaluating the abdominal circumference, the final body weight, the evolution of the body weight and the Lee index, a significant difference was observed in the FDC group when compared to the CF group. A lower weight gain in body evolution is observed only in the FCC group compared to the FC group, with a significant difference of $p < 0.05$. The means of fat in males repeated a pattern of females and also showed a significant difference when purchasing the cafeteria diet and control groups. When comparing the MDC group with the MDCC group, the retroperitoneal fat of the MDCC group decreased, showing a significant difference, and in females, the mesenteric fat showed a significant difference, decreasing when compared the FDCC group with the FDC group. The adiposity index was lower in the FDCC group compared to the FDC group, with $p < 0.05$. And when analyzing the effect of the cafeteria diet we can see that the diet groups had a significantly higher average than the control groups. Energy intake was significantly higher in both females and males who received a cafeteria diet (Females: 187.6 kcal / animal / day; Males: 195.4 Kcal / animal / day) compared to the control group (Females: 112, 2 kcal / animal / day; Males: 160.4 Kcal / animal / day), with $p < 0.05$. In the intraperitoneal insulin resistance test when analyzing the area under the curve, the rats in the cafeteria diet group showed significantly greater insulin resistance than the control rats. The cafeteria diet group showed the highest blood glucose at the point after the administration of the glucose load (30 minutes) with an average of 176.9 ± 68.7 mg, when the glucose tolerance test was performed. In the other points, there was no statistically significant difference. When looking at the area under the curve, the effect of casein was significant in the FDCC group, when compared to the FDC group. When analyzing the biochemical parameters, the triglyceride levels of the FDC group were significantly higher compared to the FC group. HDL-c levels were statistically higher for CF compared to the FCC group. The groups supplemented with casein showed a reduction in most liver enzymes, presenting a significance of $p = 0.01$ for the TGP enzyme when compared to the control group of females (FC) with the supplemented control group (FCC). heart were significantly higher in the FDC than in the CF and in males only the heart weight was significantly higher in the MDC group when compared to the MC. There were no histological changes in the organs. Casein appears to be promising in animals under physiological conditions, since it exerted a statistically significant effect on weight gain, adiposity index and amount of adipose tissue, the TGP enzyme and in the glucose tolerance test. Therefore, additional studies should be carried out over a longer period to verify its possible action in increasing satiety, controlling body mass and metabolic rates and, thus, can

serve as an important nutritional resource for the treatment and prevention of metabolic diseases.

Keywords: Casein. Obesity. Adiposity index. Protein. Cafeteria diet.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	- Estrutura de uma micela de caseína.....	33
FIGURA 2	- Fluxograma dos grupos de Ratos <i>Wistar</i> machos.....	38
FIGURA 3	- Fluxograma dos grupos de Ratos <i>Wistar</i> fêmeas.....	38
FIGURA 4	- Cálculo amostral.....	39
FIGURA 5	- Imagem da caseína utilizada na suplementação dos ratos, caseína <i>Gold Standart 100% Casein</i> da marca comercial Optimum Nutrition.....	41
FIGURA 6	- Efeito da suplementação com caseína em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria.....	46
FIGURA 7	- Efeito da suplementação com caseína nos dados antropométricos de ratos machos tratados com dieta de cafeteria	46
FIGURA 8	- Efeito da suplementação com caseína no peso dos estoques de gordura em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria.....	48
FIGURA 9	- Efeitos da suplementação com caseína sobre o peso das gorduras em ratos machos adultos.....	48
FIGURA 10	- Efeito da suplementação com caseína do índice de adiposidade em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria	49
FIGURA 11	- Efeitos da suplementação com caseína no índice de adiposidade de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria.....	50
FIGURA 12	- Efeito da suplementação de caseína no consumo alimentar de ratas fêmeas alimentadas com dieta cafeteria.....	51
FIGURA 13	- Efeito da suplementação de caseína no consumo alimentar de ratos machos alimentados com dieta cafeteria.....	52
FIGURA 14	- Efeito da suplementação de caseína no teste de tolerância a insulina e no índice de desaparecimento da glicose em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria.....	53
FIGURA 15	- Efeito da suplementação de caseína no teste de tolerância a insulina de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria.....	53
FIGURA 16	- Efeito da suplementação de caseína no teste de tolerância oral a glicose em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria.....	54
FIGURA 17	- Efeito da suplementação de caseína no teste de tolerância oral a	54

	glicose em ratos machos alimentados com dieta de cafeteria.....	
FIGURA 18	- Efeito da suplementação com caseína no perfil metabólico de ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria.....	57
FIGURA 19	- Efeito da suplementação com caseína micelar no perfil metabólico de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria.....	57
FIGURA 20	- Efeito da suplementação com caseína no peso dos órgãos em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria.....	59
FIGURA 21	- : Efeito da suplementação com caseína no peso dos órgãos em ratos machos alimentados com dieta de cafeteria.....	59
FIGURA 22	- Efeito da suplementação com caseína em fígados de ratos machos com dieta de cafeteria.	60
FIGURA 23	- Efeito da suplementação com caseína em fígados de ratas fêmeas com dieta de cafeteria.....	60
FIGURA 24	- Efeito da suplementação com caseína da raiz da aorta de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria.....	60
FIGURA 25	- Efeito da suplementação com caseína da raiz da aorta de ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria.....	61
QUADRO 1	- Composição Proteica do Leite de Vaca	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Classificação internacional da obesidade segundo o índice de massa corporal (IMC) e risco de doença (Organização Mundial da Saúde) que divide a adiposidade em graus ou classes	19
Tabela 2	- Cardápio de oferta de alimentos hipercalóricos com base em literatura (MORAES et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2008)	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DHGNA - doença hepática gordurosa não alcoólica;

AGL - ácidos graxos livres;

TGF- β - fator de crescimento tumoral- β ;

TNF- α - fator de necrose tumoral- α ;

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade;

SCA – síndrome coronariana Aguda;

RC – remodelação cardíaca;

OMS – Organização Mundial de Saúde;

DRI – Diretriz Internacional;

pH – potencial hidrogeniônico (representação da escala na qual uma solução neutra é igual a sete, os valores menores que sete indicam uma solução ácida e os maiores que sete indicam uma solução básica);

AIN – 93 - documento do *American Institute of Nutrition* que estabelece os padrões nutricionais para roedores de laboratório;

TGO – transaminase glutâmico-oxalacética;

TGP – transaminase glutâmico-pirúvica;

LDH – desidrogenase láctica;

PCR - proteína C reativa;

IMC – índice de massa corporal;

PNAN - Política Nacional de Alimentação e Nutrição;

DCNT - doenças crônicas não-transmissíveis;

RI – resistência à insulina;

DM2 – diabetes mellitus tipo 2;

HAS – hipertensão arterial sistêmica;

SM – síndrome metabólica;

CT – colesterol total;

TG – triglicerídeos;

HDL-C - lipoproteína de alta densidade - colesterol;

DCV – doenças cardiovasculares;

CV – cardiovascular;

FFAR - receptores de ácidos graxos livres;

GPR - receptores acoplados à proteína G;

NEFA - receptores para ácidos graxos não esterificados;
CDEs - produtos químicos desreguladores endócrinos;
AR - receptor de andrógeno;
GLP-1 – glucagon-like peptide-1;
AMPc - monofosfato cíclico de adenosina;
IAM – infarto agudo do miocárdio;
NAFL/NAFLD – fígado gorduroso não alcoólico;
NASH/EHNA - esteato-hepatite não alcoólica;
CHC – carcinoma hepatocelular;
IL – 6 – Interleucina 6;
DNL – lipogênese de novo;
LPS – lipopolissacarídeo;
AST - aspartato aminotransferase;
ALT - alanina aminotransferase;
GGT - gama-glutamil transpeptidase;
SCM – doença cardiometabólica/síndrome cardiometabólica;
IC – insuficiência cardíaca;
CN/CAS – caseína;
BSA – Albumina sérica bovina;
aLA - alfa-lactalbumina;
bLG - beta-lactoglobulina;
AA – aminoácidos;
NAEVI – Núcleo Avançado de Estudos da Vida;
CEUA - Comitê de Ética em Experimentação Animal;
UEPG - Universidade Estadual de Ponta Grossa;
DP – dieta Padrão;
DC – dieta de Cafeteria;
IGT – teste de tolerância à glicose;
AUC – área sob a curva;
PBS – solução salina tamponada com fosfato;
PFA – paraformaldeído.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1 OBESIDADE.....	19
3.2 DIETA DE CAFETERIA.....	20
3.3 DISLIPIDEMIAS	22
3.4 DIABETES MELLITUS	23
3.5 DOENÇA HEPÁTICA NÃO ALCOÓLICA	26
3.6 DOENÇAS CARDIOVASCULARES	29
3.7 PROTEÍNAS DO LEITE - CASEÍNA	31
4. MATERIAL E METODOLOGIA	36
4.1 AMBIENTE.....	36
4.2 AMOSTRA.....	36
4.2.1 Grupo dos Machos.....	36
4.2.2 Grupo das Fêmeas	37
4.3 CÁLCULO AMOSTRAL	39
4.4 DIETAS	39
4.4.1 Dieta Padrão (Controle)	39
4.4.2 Dieta de cafeteria.....	40
4.4.3 Suplementação com Caseína.....	41
4.5 CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS	41
4.5.1 Determinação da evolução do peso e do ganho de peso.....	41
4.5.2 Consumo alimentar (Kcal/semana)	42
4.5.3 Índice de Adiposidade	42
4.5.4 Índice de Lee	42
4.6 TESTES INTRAPERITONEAIS DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (IGT).....	42
4.7 TESTE DE RESISTÊNCIA À INSULINA	43
4.8 ATO OPERATÓRIO, COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO E EUTANÁSIA	43
4.9 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	43
4.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA	44
4.11 HISTOLOGIA (OIL RED O).....	44
4.12 VARIÁVEIS ANALISADAS	44
4.13 DESENHO EXPERIMENTAL	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 AVALIAÇÃO ATRAVÉS DOS ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS.....	45
5.2 AVALIAÇÃO DAS GORDURAS PERIGONADAL, RETROPERITONEAL E MESENTÉRICA	47
5.3 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE.....	49
5.4 CONSUMO ALIMENTAR.....	50
5.5 TESTE DE RESISTÊNCIA A INSULINA	52
5.6 TESTE INTRAPERITONEAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE	53
5.7 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	55
5.8 AVALIAÇÃO DOS ÓRGÃOS (FÍGADO E CORAÇÃO) ATRAVÉS DO PESO E HISTOLOGIA	58
6. CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63
ANEXO A – Carta de Aprovação	80

1. INTRODUÇÃO

Doenças metabólicas e obesidade são um grande problema de saúde mundial. A obesidade abre portas para diversas complicações como: hipertensão arterial sistêmica, alterações dos níveis séricos de lipídios e glicemia, doenças cardiovasculares, aumento do risco de mortalidade e possui íntima relação com a prevalência do fígado gorduroso ou doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). O acúmulo de gordura no fígado é decorrente, principalmente, da elevação dos ácidos graxos livres (AGL) na corrente sanguínea (GOLDBERG; GINSBERG, 2006). De uma forma geral, lesões hepáticas persistentes resultam em desorganização e destruição tecidual. Para restaurar a homeostase dos tecidos, vias intracelulares e intercelulares são ativadas no intuito de promover o reparo hepático (LEÃO, 2015). Quando o fígado sofre alguma agressão, células inflamatórias e residentes, como as células de Kupffer, são recrutadas e passam a liberar citocinas, tais como Fator de Crescimento Tumoral- β (TGF- β), Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) e outros agentes quimiotáticos que regulam a resposta inflamatória e estimulam a fibrogênese hepática (HERNANDEZ-GEA; FRIEDMAN, 2011). De acordo com Liu et al. (2011), a progressão da esteatose hepática não alcoólica está estreitamente relacionada com a peroxidação lipídica e com o estresse oxidativo crônico. A esteatose pode progredir para danos ao órgão que variam da *non-alcoholic steato hepatitis* (DHGNA), fibrose avançada até a cirrose, podendo agravar-se devido a carcinoma hepatocelular (BYRNE et al., 2009; CARVALHEIRA; SAAD, 2006; PAGE; HARRISON, 2009).

Além dos danos hepáticos, sabe-se que para cada 10% de aumento no peso corporal, há aumento na incidência de doenças coronarianas em aproximadamente 20%, além da elevação no colesterol plasmático em torno de 12 mg/dL (BLUMENKRANTZ, 1997). Segundo Defronzo & Ferrannini (1991), as doenças cardiovasculares têm origem também com a hiperinsulinemia, a qual aumenta a síntese de lipoproteína de muito baixa densidade (*Very Low Density Lipoprotein* – VLDL), conduzindo a hipertrigliceridemia. Com isso ocorre aumento no transporte arterial de colesterol e eleva-se a síntese de lipídeos endógenos. Posteriormente, há aumento na síntese de colágeno nas células da parede vascular e na formação de placas de lipídeos nas artérias associada à diminuição de sua remoção. Assim, haverá predisposição à formação do ateroma, elevando a probabilidade de ocorrência de problemas cardiovasculares (FRANCISCHI et al, 2000). A doença mais importante que afeta o coração é a doença arterial coronariana (DAC), que pode levar à obstrução aguda do fluxo

sanguíneo coronariano, conhecida como síndrome coronariana aguda (SCA) (MC PHERSON, 2012).

De acordo com a literatura, a maioria dos indivíduos obesos consomem dietas ricas em gordura (BLUNDELL; GILLET, 2001; DE SOUZA et al, 2005). Tal comportamento constitui importante fator de risco na fisiopatologia das afecções metabólicas, incluindo-se dislipidemia e hiperglicemia, e remodelação cardíaca, um processo predisponente à ocorrência de doenças cardíacas (MONTEIRO et al, 1995). O termo remodelação cardíaca (RC) ou remodelamento é amplamente utilizado na literatura e pode ser definido como alterações na expressão gênica, moleculares, celulares ou intersticiais que podem manifestar-se clinicamente por alterações de tamanho, da geometria, da massa, do volume e da função do coração, em resposta a uma determinada agressão (COHN, FERRARI, SHARPE, 2000; MENDES et al, 2010). As doenças coronarianas e a hipertrofia ventricular esquerda, que levam à cardiomiopatia, também são algumas das doenças cardiovasculares causadas pela obesidade (BERNARDO, 2015).

Segundo Miotto (2001), após seis semanas de tratamento com dieta hiperlipídica, os ratos apresentaram as concentrações dos lipídeos séricos elevados e uma significativa diminuição da sensibilidade às catecolaminas, noradrenalina (agonista seletivo β_1) e isoprenalina (agonista não seletivo β_1 e β_2), em átrios direitos isolados, indicando uma disfunção fisiológica decorrente da dieta. Os adrenoceptores β são os primeiros elementos na cadeia de transdução do sinal mediando a estimulação adrenérgica, tal estimulação representa um passo chave na resposta do rendimento cardíaco a um aumento da demanda periférica por oxigênio e nutrientes (CASTELLANO; BOHM, 1997).

Nas últimas décadas, a população está aumentando o consumo de alimentos com alta densidade calórica, alta palatabilidade, baixo poder sacietógeno e pobre em nutrientes. Estas características favorecem o aumento da ingestão alimentar e, portanto, contribuem para o desequilíbrio energético (ABESO, 2016). Um importante aspecto a ser considerado é o fato de o consumo alimentar ser baseado em modelos com altos teores de carboidratos simples e gordura saturada. Não é incomum relacionar um péssimo hábito alimentar com o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis. Segundo a OMS (2019) sedentarismo, assim como tabagismo, consumo excessivo de bebidas alcoólicas, as dietas poucos saudáveis e poluição do ar, são fatores de risco que impulsionam o crescimento da incidência das doenças crônicas não transmissíveis. Dessa forma, a utilização de dietas para animais ricas em alimentos ultraprocessados, consumidos pela população humana, que são altamente palatáveis, vêm sendo empregados em muitas pesquisas relacionadas à obesidade e

distúrbios metabólicos (NASCIMENTO et al., 2008). A dieta de cafeteria é composta por: biscoito *waffer*, salgadinhos comerciais e bolos industrializados, amendoim torrado, chocolate e refrigerante, e tem como objetivo simular, na alimentação dos ratos, o tipo de consumo alimentar feito pelas sociedades modernas, onde grande parte das refeições é feita em cafeterias, lanchonetes e *fastfoods*. Além da obesidade, a dieta de cafeteria promove em animais experimentais outras comorbidades como: alterações metabólicas e bioquímicas (PEREIRA, 2002; PRADA et al., 2005), permitindo assim, estudar as consequências fisiológicas deste consumo alimentar e avaliar condições morfofisiológicas que podem contribuir para o estudo de alterações hepáticas, cardíacas, entre outras.

A redução da ingestão calórica é o primeiro passo no tratamento convencional de obesidade. Além disso, o aumento do gasto energético, modificação comportamental e envolvimento familiar também fazem parte do processo de mudança. Existem diversos tipos de tratamentos para a epidemia da obesidade, que variam de acordo com o seu grau e com a presença de complicações associadas. Dentre eles estão as dietas, substâncias farmacológicas ou até mesmo cirurgias. A adequação da ingestão calórica e o suprimento das necessidades nutricionais variam de acordo com a idade (ABESO, 2016; WHO, 2003).

A recomendação da proporção calórica dos macronutrientes é sugerida pela diretriz internacional (DRI): 15% proveniente de proteínas, em torno de 55% dos carboidratos, e 30% das gorduras, para a obtenção de uma alimentação mais saudável. O *National Cholesterol Education Program* norte-americano propõe que, para o tratamento de dislipidemias em adultos, é necessário haver uma maior restrição calórica de maneira que a dieta alcance cerca de 35% do valor calórico total sob a forma de gorduras, sendo menos de 7% de ácido graxo saturado, mais de 10% de poli-insaturado e mais de 20% de monoinsaturado. Entretanto, o tratamento dietético só terá sucesso quando aliado ao aumento do gasto energético e a mudanças no estilo de vida, que contribuam para alterações de hábitos, resultando em melhor qualidade de vida em longo prazo (ABESO, 2016; WHO, 2003).

De acordo com alguns autores, umas das características das proteínas que influenciam as taxas séricas de colesterol é a sua composição amionoacídica. A digestibilidade da proteína da dieta é uma propriedade que também pode afetar os níveis séricos de colesterol (MODLER, 2000).

A ingestão de produtos lácteos vem sendo associada a benefícios em parâmetros relacionados à obesidade e síndrome metabólica. As proteínas do leite bovino, em particular as do soro, têm promovido efeito positivo no metabolismo de glicose, diminuição no ganho de peso e aumento da queima de gordura durante redução energética (TRANBERG, 2014).

Os macros componentes do leite bovino são a água (87,30%), a lactose (4,90%), gordura (3,80%), proteínas (3,30%) e minerais (0,72%). As partículas suspensas na fase líquida do leite são gotículas de gordura e micelas de caseína. A caseína encontra-se organizada no leite sob a forma de micelas esféricas e pode ser definida como a proteína precipitada pela acidificação do leite a um valor de pH próximo a 4,6, sendo assim insolúvel em seu ponto isoelétrico (WALSTRA et al., 2006). A caseína é de natureza anfotérica, possibilitando reações desejáveis em sistemas alimentícios, nas interfaces óleo-água e ar-água como componente de sistemas funcionais ou pelo aumento do valor proteico do produto final (MODLER, 2000).

A caseína gera, após sua ingestão, um fluxo constante de aminoácidos na corrente sanguínea, mantendo um amplo espectro dos mesmos por um período de cerca de sete horas após a sua ingestão; Uma das propriedades da caseína é formar uma espécie de gel no intestino e este gel garantir que os aminoácidos presentes sejam liberados gradualmente, o que faz dela uma opção para prevenção do catabolismo e supressão de hormônios catabólicos como o cortisol (FANI, 2014).

A caseína e seus hidrolisados enzimáticos possuem várias propriedades funcionais desejáveis e, por isto, há grande interesse em sua utilização em maior escala na indústria de alimentos. Healy et al, (2016) mostrou em um estudo que a suplementação com caseína hidrolisada protegeu os camundongos da intolerância à glicose induzida por uma dieta rica em gordura após 12 semanas. Existem numerosas fontes de proteína que podem ser usadas em dietas purificadas para roedores. Estas incluem caseína, proteína de soja isolada, sólidos brancos de ovo, lactalbumina e glúten de trigo. Cada uma tem sua própria limitação quando administradas em animais (REEVES, 1996). A caseína foi escolhida como fonte de proteína para as dietas AIN-93 (documento do *American Institute of Nutrition* que estabelece os padrões nutricionais para roedores de laboratório), pois sua composição de aminoácidos é razoavelmente adequada, está prontamente disponível e o custo é baixo em relação às outras fontes.

Novos avanços nas Ciências da Nutrição e nas pesquisas biomédicas têm mostrado algumas das complexas relações entre nutrição e saúde, preconizando que proteínas e peptídeos de origem alimentar poderão ser úteis na prevenção e/ou tratamento de algumas patologias decorrentes da má nutrição e envelhecimento (SGARBIERI, 2004). Inúmeras pesquisas mostram os efeitos fisiológicos benéficos das proteínas e peptídeos do soro do leite, sobretudo, em experimentos com animais, porém o conhecimento ainda é muito limitado quando se fala sobre a caseína.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da suplementação da caseína em ratos submetidos a uma dieta de cafeteria comparado a uma dieta padrão.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar e comparar evolução ponderal dos animais.
- Avaliar a influência da exposição a uma dieta de cafeteria, com e sem a suplementação com caseína, e uma dieta padrão, com e sem suplementação com caseína, sobre as alterações no tecido hepático, cardíaco, e nos níveis de colesterol total e HDL, triglicérides, transaminases (TGO/TGP), gama GT.
- Verificar, através dos testes intraperitoneal de tolerância à glicose e do teste de resistência à insulina, a sensibilidade à insulina e intolerância à glicose.
- Avaliar e comparar macroscopicamente o fígado e o coração dos animais de cada grupo, detectando os tipos de alterações histopatológicas destes órgãos.
- Determinar as seguintes características antropométricas: ganho total de peso, consumo dietético total, Índice de Adiposidade, Índice de Lee, gordura perigonadal, mesentérica e retroperitoneal.
- Investigar os efeitos da caseína nas alterações histológicas hepáticas e cardíacas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 OBESIDADE

A Organização Mundial da Saúde (OMS) 2018 define a obesidade como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura que traz riscos à saúde. A obesidade é desencadeada por um longo período de desequilíbrio entre ingestão de calorias e gasto de energia, resultando na proliferação e expansão dos adipócitos (JU CUI et al, 2017). Pode ser caracterizada por inflamação crônica de baixo grau e está associada ao aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, bem como ao excesso de produção de espécies reativas de oxigênio (EFFTING et al., 2019).

Os principais fatores que parecem conduzir a obesidade são excesso de alimentação, estilo de vida sedentário ou baixa intensidade de atividade física associados a problemas do sono (BISCHOFF et al., 2017). A etiologia da obesidade é complexa e multifatorial, resultando da interação de genes, ambiente, estilos de vida e fatores emocionais. Essa doença, portanto, não tem apenas um impacto psicológico, mas também é um dos principais fatores de risco para outras doenças crônicas não transmissíveis, como hipertensão arterial, diabetes mellitus tipo dois, doenças cardiovasculares, entre outras, contribuindo assim para o aumento da morbidade e mortalidade populacional em vários países (SILVA et al., 2019).

Existem diferentes maneiras de mensuração da obesidade, sendo o índice de massa corporal (IMC) o principal indicador na avaliação do estado nutricional em adultos (FERREIRA, SZWARCWALD; DAMACENA, 2019). Este índice é calculado através da divisão do peso em kg pela altura em metros elevada ao quadrado (kg/m^2) e é o cálculo mais usado para avaliação da adiposidade corporal. Assim, é um bom indicador, mas não totalmente correlacionado com a gordura corporal. A vantagem da sua utilização é sua simplicidade, praticidade e custo zero.

Entretanto, tem-se notado que a distribuição de gordura é relevante, especialmente a concentração de tecido adiposo na região abdominal. Assim, a combinação de massa corporal e distribuição de gordura é, provavelmente, a melhor opção para preencher a necessidade de avaliação clínica. Deve-se notar, a princípio, que não há avaliação perfeita para sobrepeso e obesidade, que pode variar de acordo com fatores étnicos e genéticos. Também pode haver diferenças na composição corporal em função do sexo, idade, no cálculo de indivíduos sedentários quando comparados a atletas, na presença de perda de estatura em idosos devido a cifose, em edemaciados, sarcopênicos, etc. (ABESO, 2016).

Tabela 1: Classificação internacional da obesidade segundo o índice de massa corporal (IMC) e risco de doença que divide a adiposidade em graus ou classes.

IMC	CLASSIFICAÇÕES
Menor do que 18,5	Abaixo do peso normal
18,5 – 24,9	Peso Normal
25,0 – 29,9	Excesso de peso
30,0 – 34,9	Obesidade Classe I
35,0 – 39,9	Obesidade Classe II
Maior ou igual a 40,0	Obesidade Classe III

Fonte: Classificação segundo a OMS a partir do IMC. Adaptado de: ABESO, 2016.

A obesidade vem sendo pautada como objeto de intervenção governamental no Brasil desde a primeira Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) (BRASIL MS,1999), quando já despontava como questão de saúde pública, em virtude de avanços em sua prevalência. Há um consenso de que a obesidade é condicionada por fatores biológicos, ambientais, socioeconômicos, psicossociais e culturais. Entretanto, a sua ocorrência vem sendo predominantemente atribuída a um ambiente que promove ingestão excessiva de alimentos processados e ultraprocessados e desestimula a atividade física (SWINBURN et al., 2015; WANDERLEY; FERREIRA, 2010).

3.2 DIETA DE CAFETERIA

Nos últimos anos, o Brasil, assim como diversos países em desenvolvimento, passou por muitas mudanças numa frenética transição demográfica, epidemiológica e nutricional. A alta taxa de mortalidade infantil e desnutrição deu lugar a um crescente número de doenças crônicas não-transmissíveis que tem sua origem, na maioria das vezes, na obesidade (BATISTA FILHO; BATISTA, 2010).

As DCNT (doenças crônicas não-transmissíveis) são doenças de caráter multifatorial, cujo desenvolvimento se dá a longo prazo. Atualmente, representam um grande problema de saúde pública, devido ao forte impacto que causam na qualidade de vida dos indivíduos afetados, além da maior possibilidade de morte prematura e efeitos econômicos adversos para as famílias, comunidades e sociedade em geral. (SANTOS, 2016).

A adesão deste padrão alimentar, visto como não saudável, ligado aos demais fatores de risco supracitados, podem intervir facilitando o desenvolvimento de DCNT como obesidade, resistência à insulina (RI), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertrigliceridemia e hipertensão arterial sistêmica (HAS), todas consideradas importantes situações de risco

cardiovascular, cuja associação resulta em um transtorno conhecido como Síndrome Metabólica (SM) (WHO, 2013). Os grupos alimentares mais consumidos pelos brasileiros são os produtos com altos teores de carboidratos simples e gordura saturada, como salgadinhos, biscoitos recheados, pizzas e refrigerantes (BRASIL, 2011).

Nos estudos, os modelos de aumento da ingestão calórica são realizados tanto por meio de dietas hiperlipídicas, quanto por meio de dietas de cafeteria (MIESEL et al., 2010; MUELER et al., 2010), as quais mostram um melhor entendimento do perfil nutricional populacional nos dias de hoje, e seus efeitos a longo prazo, pois consistem, em sua maioria, em uma alimentação rica em gorduras e açúcares (LOUZADA et al., 2013). Todavia, a utilização desse tipo de dieta em pesquisas com humanos não é aconselhada, devido às implicações éticas que envolvem o seu uso.

Dietas de cafeteria podem ser manipuladas utilizando diferentes ingredientes e concentrações, de acordo com o que se pretende estudar (NASCIMENTO, 2006). As dietas de cafeteria configuram-se por desproporções apresentados na oferta dos macronutrientes, e geralmente são consideradas hiperglicídicas, uma vez que sua composição consiste em alimentos contendo grandes quantidades de carboidratos, além de gorduras, contribuindo para alterações na taxa de adiposidade e no metabolismo glicêmico. A alta palatabilidade imputada a este tipo de dieta pode levar à indução da hiperfagia por meio da estimulação da alimentação hedônica (alimentação por prazer), proporcionando célere ganho de peso corporal (CASTRO et al., 2015; HEYNE et al., 2009).

Em um estudo realizado por Mendes et al (2013) foram utilizados alimentos industrializados acrescidos à ração padrão Nutrivital CR1, que foram oferecidos em um cardápio semanal, incluindo refrigerantes do tipo guaraná e cola. Os alimentos empregados nesse estudo foram mortadela, *marshmallow*, salgadinho de bacon, bolacha *waffer*, bolacha recheada, salgadinho de queijo, salsicha, pão francês e paçoca. Já no estudo de Macêdo et al (2012) foi utilizada ração padrão com perfil calórico de 2,93 kcal/g como oferta alimentar para o grupo controle, enquanto o grupo experimental foi alimentado com dieta de cafeteria contendo 4,186 kcal/g e 0,42 kcal/mL, composto por biscoitos *waffer*, salsichas, batata frita, leite condensado e refrigerantes.

Nascimento et al. (2008) produziu suas dietas experimentais em laboratório, contendo ração padrão Purina®, suplemento de proteína, vitaminas, minerais e alguns alimentos industrializados: amendoins torrados, óleo de milho, chocolate, biscoitos de milho, batatas fritas, macarrão instantâneo, queijo ralado, leite condensado e biscoitos *waffer*.

Existem outros métodos que também são utilizados para a indução da obesidade usando modelos experimentais animais. A administração de glutamato monossódico (DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006; IWASE et al., 1998) e remoção do número de filhotes da ninhada total (HABBOUT et al., 2011).

3.3 DISLIPIDEMIAS

A dislipidemia é definida como o distúrbio de uma ou mais das lipoproteínas do sangue, tais como aumento do colesterol total (CT), colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) e / ou triglicerídeos (TG), ou baixos níveis de lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL-C) (BRIDGET; NAIMAN; GARCIA, 2018). A relevância das dislipidemias como problema de saúde pública está na sua relação com as doenças cardiovasculares (DCV) (YAMAMOTO-KIMURA et al, 2006) estando classificadas entre os mais importantes fatores de risco para doença cardiovascular aterosclerótica, juntamente com a hipertensão arterial, a obesidade e o diabetes mellitus tipo 2 (ENES; SILVA, 2018; MURRAY; LOPEZ, 1997).

A dislipidemia é uma doença complexa que resulta de múltiplas etiologias biológicas e comportamentais, como predisposição genética, capacidade metabólica, ingestão alimentar e atividade física (BAMBA, 2014). Compreender as interações entre esses fatores complexos para produzir fenótipos de dislipidemia é crucial para identificar e elaborar estratégias bem-sucedidas para gerenciar lipídios no sangue. Entre os fatores biológicos, o estudo da genética é essencial para melhorar a compreensão científica da progressão da doença em seu nível mais básico e a compreensão do papel da variação genética individual na predisposição da doença pode levar a melhorias na identificação e prevenção de doenças em indivíduos geneticamente em risco (BRIDGET; NAIMAN; GARCIA, 2018).

Nas dislipidemias, taxas de triglicerídeos elevadas e diminuição das concentrações de HDL são consequências metabólicas do excesso de tecido adiposo visceral e aumento do risco de doença aterosclerótica através de vários mecanismos (BRIDGET; NAIMAN; GARCIA, 2018; WAJCHENBERG, 2000). O papel das concentrações elevadas de TG na progressão da DCV não está completamente elucidado, mas postulou-se que seja devido ao aumento da ativação endotelial e inflamação (TENENBAUM; KLEMPFNER; FISMAN; 2014). Concentrações elevadas de TG estão fortemente associadas à resistência à insulina, DCV e outros indicadores de disfunção metabólica, devido ao excesso de massa de tecido adiposo (BRIDGET; NAIMAN; GARCIA, 2018; WAJCHENBERG, 2000).

Concentrações elevadas de HDL são geralmente reconhecidas como cardioprotetoras, uma vez que essas lipoproteínas servem para sequestrar o excesso de colesterol no fígado para excreção. Baixas concentrações de HDL são um biomarcador diagnóstico para a Síndrome Metabólica (SM) e DCV. A relação entre o HDL elevado e a SM tem sido mostrada pelos resultados de ensaios clínicos com agentes que reduzem o HDL, que não levaram à redução de eventos cardiovasculares em comparação com o grupo controle (SCHWARTZ et al., 2012). No entanto, devido à forte relação inversa entre as concentrações de HDL e DCV no nível epidemiológico, ele continua sendo um importante biomarcador para avaliar a saúde cardiometabólica (RADER; HOVING, 2014).

Diversos ensaios clínicos indicaram que o tratamento de dislipidemia é eficaz na prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares (GOFF et al., 2006; JANUS et al., 2010). Este tratamento pode reduzir o risco de doença cardíaca em aproximadamente 30% durante um período de 5 anos (WEN-QING et al., 2015). Dos fatores de risco CV tradicionais definidos, a dislipidemia talvez seja o fator de risco mais comum e facilmente controlável. Em todo o mundo, estima-se que os níveis elevados de colesterol causam 56% das doenças cardíacas isquêmicas e 18% dos derrames, totalizando 4,4 milhões de mortes anualmente (CHANDRA et al., 2014).

3.4 DIABETES MELLITUS

O diabetes mellitus é reconhecido como a maior doença epidêmica para a saúde pública do século XXI. Atualmente, existem mais de 340 milhões de pessoas em todo o mundo afetadas pelo diabetes mellitus e este número deve dobrar até 2025 (DANAEI et al., 2011).

Diabetes mellitus (DM) é definido como um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, ação ineficaz da insulina ou ambos (DIABETES CARE, 2014), podendo ser simplesmente classificada em diabetes mellitus tipo 1 (DM1) e diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (TUOMI et al., 2014). Hiperglicemia é a característica clínica que é usada para definir um paciente com DM. Entretanto, vários outros mecanismos patogênicos - frequentemente entrelaçados - que caracterizam esta doença também são reconhecidos: resistência à insulina, dislipidemia, hipertensão e disfunção imune (FORBES, 2013). O DM é classificado entre doenças não transmissíveis (DCNT) (HUNTER; REDDY, 2013). Atinge pessoas na idade mais produtiva, o que ocasiona aumento expressivo nos gastos de saúde pública e impacta no crescimento

econômico do país. Além disso, reduz a expectativa de vida, já que está entre as 10 principais causas de morte, juntamente com as principais DCNTs: doença cardiovascular, câncer, doença respiratória, sendo responsáveis por mais de 80% das mortes prematuras por DCNT.

Historicamente, a distinção entre DM1 e DM2 depende principalmente da apresentação clínica, como a idade de início da doença, a presença de cetose e a dependência de insulina. A diabetes mellitus tipo 1, que aparece principalmente na infância ou na idade adulta jovem, é caracterizada pela destruição autoimune das células β do pâncreas, mediada por células T. Assim, não há produção de insulina, sendo necessária a administração desta via subcutânea. Já o diabetes mellitus tipo 2, que aparece principalmente na idade adulta, é o resultado da resistência periférica à insulina e da deficiência parcial de produção de insulina (YI et al., 2014). O desenvolvimento do diabetes tipo 2 é multifatorial e influenciado pela interação entre fatores genéticos e ambientais. O início é frequentemente influenciado por fatores relacionados ao estilo de vida, idade, obesidade e dieta hiperlipídica (TUOMI et al., 2014). Assim, o sobrepeso e a obesidade são considerados as principais contribuições para esta disfunção (RIGANO; SIRIGNANO; TAGLIALATELA-SCAFATI, 2017).

A obesidade, especialmente a obesidade central, aparece frequentemente em grupos com resistência à insulina, triglicerídeos elevados e colesterol HDL baixo; isto é, a chamada síndrome metabólica (SM) (LI et al, 2019). Embora o DM2 seja evitável por modificações no estilo de vida (PAN et al, 1997), continua sendo um desafio prever com precisão o diabetes em níveis individuais (SPENCER et al, 1978).

Tanto o triglicerídeo alto quanto o HDL-C baixo são componentes da SM e dois marcadores da resistência à insulina (GRUNDY; CLEEMAN; DANIELS et al., 2005), e podem estar relacionados à resistência à insulina através de diferentes mecanismos ou vias. Nesse sentido, o HDL-C pode supra regular a fosforilação da proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) e acetil-CoA carboxilase para aumentar a captação de glicose no músculo e sensibilidade à insulina (HAN et al., 2007), enquanto altos níveis de insulina podem aumentar os níveis de triglicérides, ativando seletivamente enzimas envolvidas na síntese de ácidos graxos livres (SHIMOMURA et al., 1999).

Estudos em modelos animais e humanos utilizam receptores de ácidos graxos livres (FFAR), também conhecidos como receptores acoplados à proteína G (GPR), como receptores para ácidos graxos não esterificados (NEFA) na patogênese da disfunção de células beta e progressão para resistência à insulina e DM2 (MIYAMOTO et al., 2016; TANG et al., 2015).

O papel das substâncias químicas ambientais no desenvolvimento do diabetes mellitus também tem sido amplamente investigado (CANÇÃO et al., 2016; VELMURUGAN et al., 2017). Por exemplo, alguns produtos químicos desreguladores endócrinos (CDEs) como bisfenol A, 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxin, ftalato de dietil-hexila e bifenila policlorada comprovadamente induzem resistência à insulina em modelos celulares e animais (PATEL et al., 2016; POLYZOS et al., 2012) levando à “hipótese do diabetogênio”. Esta hipótese propõe que todo EDC circulante no plasma é capaz de produzir resistência à insulina, independentemente de seu potencial obesogênico e seu acúmulo nos adipócitos, podendo assim ser considerado um fator de risco para SM e DM2 (SAKKIAH et al., 2018).

Tem sido relatado que a ativação específica receptor de androgênico (AR) no hipotálamo, músculo esquelético, fígado, tecido adiposo e células β das ilhotas pancreáticas é responsável pela manutenção ou interrupção do metabolismo energético e da homeostase da glicose (NAVARRO et al, 2015). Homens com deficiência de testosterona correm maior risco de DM2 (TAYLOR; MEADOWCRAFT; WILLIAMSON, 2015). Navarro et al (2015) revelaram que a testosterona aumenta a secreção de insulina, estimulada pela glicose através da interação entre um AR extranuclear e o peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) nas células β , o que aumenta os níveis de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) e amplifica o efeito das incretinas GLP-1 (WORTHAN; SANDER, 2016).

Em 2014, a prevalência global de DM foi estimada em 9% (OMS, 2014) e quase 1,6 milhões de mortes no mundo foram causadas diretamente por esta doença em 2015 (EGS, 2015). O DM também está associado à alta morbidade devido a uma ampla gama de complicações, como retinopatia, nefropatia, neuropatia e doença cardiovascular (OMS 2016; FOWLER, 2008), que é a causa mais comum de morte entre adultos (FOX et al, 2015). Essas complicações podem ser divididas em agudas e crônicas (VERHULST et al., 2019). São tipicamente caracterizadas por danos nos sistemas micro e macrovascular (FOWLER, 2008). Doenças microvasculares incluem retinopatia, nefropatia e neuropatia, já as macrovasculares dizem respeito à doença cardiovascular (DCV), como doença arterial coronariana, doença cerebrovascular e doença arterial periférica (ALBERTI; ZIMMET, 1998).

A incidência de insuficiência cardíaca diminuiu com o tempo para pessoas com e sem DM, mas é duas vezes maior nesta população em relação à indivíduos saudáveis. A letalidade por insuficiência cardíaca é maior em pessoas com DM1. A duração da doença e a hemoglobina glicada alterada foi associada ao aumento do risco de insuficiência cardíaca no DM1 e DM2 (MCALLISTER et al., 2018). De fato, o infarto agudo do miocárdio (IAM) é a

principal causa de morte entre os indivíduos com DM (SESHASAI et al., 2011), pois estes apresentam maior risco de eventos cardiovasculares recorrentes e mortalidade após o IAM (NAUTA et al., 2012; VAN DER HEIJDEN et al., 2013).

3.5 DOENÇA HEPÁTICA NÃO ALCOÓLICA

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada por um acúmulo excessivo de lipídios no fígado, principalmente na forma de triglicérides, na ausência de ingestão considerável de álcool (ingestão de etanol ≤ 30 g / dia para homens e ≤ 20 g / dia para mulheres) e outras causas de lesão hepática, como vírus e medicamentos (CHALASANI et al., 2012). O termo NAFLD incorpora um extenso espectro de anormalidades hepáticas histológicas, variando de simples acúmulo de triglicérides no fígado gorduroso não alcoólico (NAFL) ou esteatose a esteato-hepatite não alcoólica (NASH), caracterizada pela presença adicional de inflamação e lesão tecidual (NEUSCHWANDER-TETRI; CALDWELL, 2003). Além de complicações relacionadas ao fígado, como cirrose e carcinoma hepatocelular, a DHGNA também é um fator de risco emergente para diabetes tipo 2 e doença cardiovascular (DELLA et al., 2017).

Esteatose simples e esteato-hepatite não alcoólica (NASH) são definidas em todas as diretrizes (CHALASANI et al., 2018; EASL-EASD-EASO, 2016). Em detalhe, a esteatose simples, também chamada de fígado gorduroso não alcoólico (NAFL) inclui todo o caso caracterizado por esteatose com inflamação lobular mínima ou ausente. Pelo contrário, a NASH é caracterizada por uma degeneração dos hepatócitos balão, inflamação difusa lobular e fibrose.

Definida como uma infiltração gordurosa do fígado superior a 5% na histologia na ausência de consumo prévio ou contínuo de álcool (KLEINER et al., 2005) e / ou infecção por vírus e / ou drogas. Atualmente, a intervenção no estilo de vida, incluindo estratégias para reduzir o peso corporal e aumentar a atividade física regular, representa a base do gerenciamento da DHGNA. A ingestão calórica total desempenha um papel muito importante tanto no desenvolvimento como no tratamento da DHGNA; no entanto, além da restrição calórica sozinha, modificar a qualidade da dieta e modular a composição de macro ou micronutrientes também pode afetar marcadamente a evolução clínica da DHGNA, oferecendo uma alternativa de tratamento mais realista e viável.

A DHGNA pode ser considerada como um fator de risco cardiometabólico independente dos fatores de risco cardiometabólicos clássicos (hipertensão arterial,

dislipidemias, DM2) (FRANCQUE; VAN DER GRAAFF; KWANTEN, 2016). No entanto, a grande maioria dos pacientes com DHGNA não irá progredir, pois apenas uma minoria daqueles com NASH (3% -5%) (CHALASANI et al., 2012) apresentam um alto risco de desenvolver complicações crônicas da doença hepática. Em pacientes com esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), 11% desenvolvem cirrose e aproximadamente 40% dos pacientes morrem dentro de 15 anos por qualquer causa (dos quais 7,3% são devidos a complicações relacionadas ao fígado, especialmente naqueles com fibrose avançada ou cirrose) (ÂNGULO, 2010).

O excesso de tecido adiposo (obesidade) leva ao aumento da produção de adipocinas (como IL-6, TNF α , proteína quimiotática de monócitos-1 e inibidor do ativador de plasminogênio-1) com efeitos pró-inflamatórios, pró-fibrogênicos, pró-angiogênicos e pró-oxidantes em vários tecidos. Poucos dados existem sobre o impacto epidemiológico e clínico da obesidade em pacientes com doença hepática preexistente, no entanto, a obesidade é considerada um fator de risco independente para a presença de fibrose grave, progressão da fibrose e cirrose (ORTIZ et al., 2002; RAYNARD et al., 2002).

A DHGNA é a doença hepática crônica mais comum no mundo industrializado, com uma prevalência de 15 a 30% relatada na população geral (YOUNOSSI et al., 2016). Em particular, a prevalência da DHGNA é muito alta em indivíduos com alto risco cardiometabólico. O risco cardiometabólico refere-se a uma condição fortemente associada a um risco aumentado de desenvolvimento de DCV e DM2 como consequência da presença de alterações inter-relacionadas nas funções metabólicas e vasculares, dislipidemia, hipertensão, obesidade abdominal, resistência à insulina e hiperglicemia. Consequentemente, a estreita associação entre DHGNA e síndrome metabólica não é surpreendente (BOZZETTO et al., 2016; YANG et al., 2016). Em consonância com essas observações, a prevalência de DHGNA é de aproximadamente 50% em indivíduos hipertensos, 70% em pessoas com DM2 e até 90% em pacientes com obesidade grave (BLACHIER et al., 2013; LÓPEZ-SUARÉZ et al., 2011; YAMAZAK et al., 2015).

O modelo “multiple-hit” fornece um modelo abrangente que leva em consideração os múltiplos fatores e interações envolvidos na NAFLD (BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016). Com base neste modelo, hábitos alimentares, resistência à insulina, adiposidade visceral, estado inflamatório, estresse oxidativo, alteração no microbioma e predisposição genética, são fatores de risco reconhecidos para o desenvolvimento e progressão de DHGNA.

Com relação à predisposição genética e hábitos alimentares, a DHGNA representa um ótimo exemplo de doença pela qual a nutrigenômica nos permitiu entender como os nutrientes podem influenciar seu desenvolvimento e progressão alterando a expressão dos genes envolvidos na inflamação, glicose e metabolismo lipídico (DONGIOVANNI; VALENTI, 2017). Pacientes com obesidade também têm um risco aumentado de malignidades hepáticas primárias e o aumento do índice de massa corporal é um preditor de descompensação da cirrose hepática. A obesidade sarcopênica confere um risco de comprometimento físico e incapacidade significativamente maior do que o risco induzido por cada uma das duas condições, já que se demonstrou ser um fator de risco independente para doença hepática crônica em pacientes com obesidade e um marcador prognóstico negativo para a evolução da cirrose hepática e os resultados do transplante de fígado (SCHIAVO et al., 2018).

O tratamento de pacientes com DHGNA pode exigir uma abordagem multidisciplinar envolvendo não apenas os hepatologistas, mas também os internistas, cardiologistas e endocrinologistas, nutricionistas, educadores físicos, farmacêuticos. As diretrizes mundiais concordam que, sempre que houver suspeita de DHGNA, o diagnóstico inicial deve incluir um exame de imagem não invasivo para confirmar a presença de esteatose e bioquímica hepática geral (CHALASANI et al., 2018; EASL-EASD-EASO, 2016). A avaliação não invasiva deve ter como objetivo primeiro identificar a DHGNA em pacientes com fatores de risco metabólicos e depois monitorar a progressão da doença e a resposta ao tratamento, identificando pacientes com pior prognóstico (EASL-EASD-EASO, 2016).

Embora a DHGNA possa ser apresentada por testes padrão de laboratório, frequentemente é observado um ligeiro aumento da aspartato aminotransferase (AST) ou da alanina aminotransferase (ALT) ou gama-glutamil transpeptidase (GGT). No entanto, todas as diretrizes concordam que os níveis normais de enzimas hepáticas podem não excluir a DHGNA, sendo um teste de rastreamento não sensível (CHALASANI et al., 2018; EASL-EASD-EASO, 2016). Além disso, alterações laboratoriais podem esconder outra causa de doença hepática, na qual a esteatose é uma condição coexistente. Por outro lado, a detecção de anormalidades nos exames laboratoriais (como ferritina ou auto anticorpos) nem sempre reflete a presença de outra doença hepática, mas pode ser um epifenômeno da DHGNA sem significado clínico adicional (LEONI et al., 2018). Em termos de marcadores bioquímicos, deve-se considerar que os níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são marcadores imprecisos da DHGNA (EASL-EASD-EASO, 2016).

A biópsia hepática ainda é o padrão ouro para o diagnóstico da DHGNA, e esse procedimento invasivo, apesar de algumas limitações relacionadas à variabilidade da amostragem e risco potencial do procedimento, distingue NAFL simples da NASH (EASL-EASD-EASO, 2016). No entanto, em grande avaliação populacional ou para monitoramento da doença, alguns marcadores não invasivos foram propostos.

3.6 DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Nas últimas décadas, as doenças cardiovasculares permaneceram como a primeira causa de morte em todo o mundo, sendo sua prevalência aumentada a cada ano principalmente devido ao modo de vida moderno, baseado no aumento da ingestão de alimentos ultraprocessados e sedentarismo. (OMS-DCV, 2017; PÉREZ-MARTÍNEZ et al., 2017). Segundo estimativa da Organização Mundial da Saúde (2018), aproximadamente 17,9 milhões de indivíduos morrem por ano devido à esta condição clínica. No Brasil, registro da Sociedade Brasileira de Cardiologia, demonstra aumento na mortalidade ao longo dos anos, acometendo em 2017, 383.961 indivíduos (SBC, 2018). Devido às crescentes evidências que relacionam a presença de síndrome metabólica ao desenvolvimento de eventos cardiovasculares como infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral, este estado é agora denominado síndrome cardiometabólica (WIERNSPERGER, 2013).

A principal abordagem terapêutica para o tratamento da síndrome cardiometabólica (SCM) tem como foco restabelecer o distúrbio metabólico em estado normal através da redução do peso e prescrição de medicamentos como hipoglicemiantes, estatinas, anti-inflamatórios ou anti-hipertensivos (DE SOUZA et al., 2015; DUPREZ; TOLEUOVA 2013; GINSBERG, 2013; WIERNSPERGER, 2013; SOARE et al., 2014). Infelizmente, as abordagens terapêuticas disponíveis hoje para tratar as patologias que definem a síndrome cardiometabólica não são suficientes, pois essa síndrome altera diferentes vias metabólicas, principalmente aquelas relacionadas ao metabolismo glicídico e lipídico, e afeta diversos órgãos/tecidos, incluindo o fígado, os músculos ou o tecido adiposo e, além disso, cada indivíduo pode apresentar diferentes anormalidades metabólicas (WIERNSPERGER, 2013). Assim, há uma necessidade de compreender as vias de sinalização dos diferentes contribuintes para o desenvolvimento de doenças cardiometabólicas (SCM), na tentativa de encontrar novos possíveis alvos que, com sua modulação terapêutica, possam melhorar o tratamento e/ou a prevenção de SCM.

Nessa linha, nos últimos anos a obesidade e o tecido adiposo têm recebido atenção considerável em relação à sua contribuição potencial para o desenvolvimento de SCM. Está bem estabelecido que o tecido adiposo funciona como um órgão endócrino ao secretar várias proteínas/hormônios (adipocinas), principalmente implicados na regulação do metabolismo e no controle da resposta inflamatória (MANCUSO, 2016). A obesidade induz um desequilíbrio na produção de adipocinas em favor de adipocinas pró-inflamatórias e em detrimento de adipocinas anti-inflamatórias, levando a um grau de inflamação crônica que promove disfunção metabólica sistêmica e DCVs (MOLICA et al., 2015; NAKAMURA et al., 2014). De fato, a inflamação é hoje reconhecida como um ator central no desenvolvimento de DCVs e suas complicações (RUPARELIA et al., 2016).

Uma doença relevante neste cenário é o infarto agudo do miocárdio, resultado do transporte insuficiente de sangue para o coração, causado principalmente por doença coronariana (RODRIGUES et al., 2018). O infarto do miocárdio leva a remodelamento ventricular, fibrose, necrose, insuficiência cardíaca, entre outros, o que pode causar disfunção cardíaca parcial ou total (SEE et al., 2005). Considerando as inúmeras desvantagens do transplante cardíaco, que ainda é a melhor opção para pacientes com insuficiência cardíaca em estágio terminal (MANGINI et al., 2015), bem como as habilidades regenerativas restritas dos cardiomiócitos para curar o coração após infarto agudo do miocárdio (PAPADAKI et al., 2001), muitos estudos têm sido realizados em Medicina Regenerativa, criando alternativas para a regeneração miocárdica por meio da engenharia de tecidos.

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica da parede arterial, que ocorre em resposta à lesão endotelial, principalmente em artérias elásticas de médio e grande calibre, artérias musculares e regiões onde há um distúrbio do fluxo sanguíneo laminar. Ela é considerada a principal responsável pela doença arterial coronariana, doença arterial carotídea, acidente vascular encefálico e doença vascular periférica (GALKINA; LEY, 2009).

O remodelamento ventricular é um dos mecanismos envolvidos na progressão da IC (insuficiência cardíaca) e envolve a apoptose e hipertrofia de cardiomiócitos, fibrose intersticial decorrente da deposição de colágeno, e a rarefação vascular (SILVA et al., 2018). Deve-se ressaltar que as DCVs possuem uma complexa etiologia, envolvendo vários fatores, interações e interrelações para promover os mecanismos fisiológicos.

3.7 PROTEÍNAS DO LEITE - CASEÍNA

A nutrição apropriada constitui um alicerce para o desempenho das funções vitais, proporcionando o combustível para o trabalho biológico. As proteínas constituem uma classe de nutrientes essenciais para quase todas as funções do corpo humano. Exemplo disso é observado com as proteínas do leite. Em média, o leite de vaca contém cerca de 3,5% de proteína, no entanto, esse nível pode variar de acordo com a raça, a individualidade, o estágio da lactação e a saúde e o estado nutricional do animal.

Quadro 1 – Composição Protéica do Leite de Vaca.

Leite de Vaca	Caseínas	Proteínas do Soro
	α s – caseínas: α s1, α s2;	β – lactoglobulina
	β – caseínas;	α – lactalbumina
	κ – caseínas;	Proteases e peptonas
	γ – caseínas.	Imunoglobulinas
	Albumina	

Fonte: O autor.

As proteínas são unidas por ligações peptídicas, polímeros de aminoácidos, detentoras de sequências que podem conferir atividades metabólicas específicas. Elas desempenham papéis importantes nos processos biológicos, atuando como enzimas, neurotransmissoras, transportadoras nas membranas celulares e no O_2 entre outros. As proteínas podem também ser utilizadas como fonte de energia, mas esta não é sua função principal. Para serem utilizadas pelo organismo é preciso antes, digeri-las, metabolizá-las, resultando, assim, em aminoácidos.

Os dois macronutrientes mais comumente associados ao aumento da saciedade são as fibras e proteínas da dieta, mas ainda faltam publicações comparando e definindo sua eficácia em indivíduos obesos. A proteína é considerada o macronutriente que possui um maior poder termogênico. O aumento da ingestão de proteínas na dieta auxilia tanto na perda ponderal como no não ganho de peso. A termogênese induzida pela dieta é maior e mais prolongada após o consumo de proteínas, depois pelos carboidratos e posteriormente pelos lipídios. Esse efeito termogênico das proteínas é uma consequência do aumento da síntese proteica (ESTEVEZ; ÁVILA; ALMEIDA, 2010). A ideia que prevalece é que o efeito calorigênico dos aminoácidos é resultado de uma demanda energética aumentada pelo fígado para que este possa realizar a desaminação dos aminoácidos e a formação de ureia (HEINZ, 1965; MITCHELL et al., 1978). Além disso, as proteínas também possuem efeito na saciedade, que pode estar associado às alterações fisiológicas que ocorrem com a ingestão desse nutriente,

como a liberação de hormônios que inibem o apetite (ESTEVEES; ÁVILA; ALMEIDA, 2010). Em casos nos quais a proteína ingerida será utilizada para o crescimento ou finalidade estrutural, não há a atuação dessa termogênese (HEINZ, 1965).

As caseínas representam cerca de 80% do total de proteínas do leite bovino e proteínas do soro cerca de 18% (FOX et al, 2011). A função biológica das caseínas na glândula mamária é transportar cálcio, fosfato e proteína para o neonato (KRUIF; HOLT, 2003). Existem cinco tipos diferentes de caseínas: alfa-S1-caseína (aS1CN), alfa-S2-caseína (aS2CN), beta-caseína (bCN), kappa-caseína (kCN) e gama-caseína (gCN) sendo esta última a degradação de produtos clivados de bCN pela principal enzima proteolítica do leite: plasmina (STELWAGEN et al., 2011). As aS1-, aS2-, b- e k-caseínas são, em média, encontradas nas seguintes proporções no leite de vaca, 38, 10, 35 e 12%, respectivamente. As caseínas são de peso molecular relativamente pequeno (20 a 25 kDa).

O estudo das variantes de proteína do leite pode ser aplicado para caracterização de raças, diversidade e filogenia. Além disso, como as proteínas do leite estão envolvidas em vários aspectos da dieta humana, a caracterização da ocorrência de alelos associados a um reduzido teor de diferentes caseínas pode ser explorada para a produção de leite hipoalergênico (CAROLI; CHESSA; ERHARDT, 2009). Além de variações alélicas, as principais proteínas do leite são fortemente modificadas pós-traducionalmente com níveis variáveis de fosforilação de serina ou treonina e/ou glicosilação de resíduos de treonina, proteólise pelas enzimas do leite e oxidação de cisteína em ligações dissulfeto (FARRELL, 2011).

As quatro proteínas de soro mais abundantes são beta-lactoglobulina (bLG), alfa-lactalbumina (aLA), albumina sérica bovina (BSA) e imunoglobulinas (Igs), que representam aproximadamente 60, 20, 10 e 10% das proteínas totais do soro do leite, respectivamente. A BSA é uma proteína de fuga do sangue que não tem significado biológico ou tecnológico no leite (FOX et al, 2011). Estas proteínas principais do leite são codificadas por genes altamente polimórficos para os quais foram notificadas mutações não sinônimas e sinônimas, dando origem a 53 variantes de proteínas de ocorrência natural (CAROLI; CHESSA; ERHARDT, 2009; FARRELL et al., 2004; NG-KWAI-HANG, 2011).

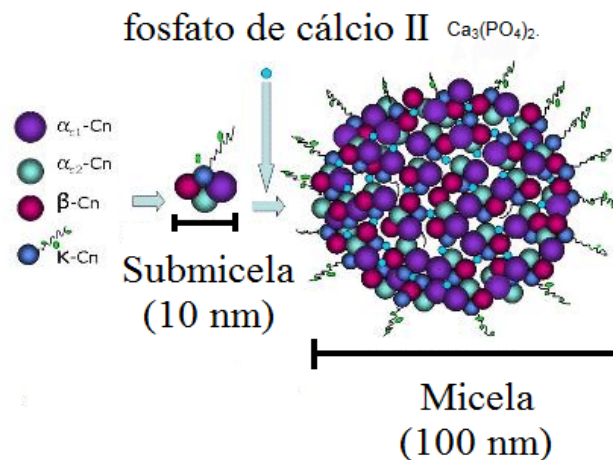
A caseína tem atividade anfipática por possuir regiões hidrofóbicas e hidrofílicas (DE KRUIF; GRINBERG, 2002). A conformação das moléculas expõe consideravelmente os resíduos hidrofóbicos, o que resulta em forte associação entre as caseínas e as tornam insolúveis em água (GOFF, 2009). Possui sequências fosforiladas através das quais pode interagir com fosfato de cálcio, o que a torna capaz de sequestrar fosfato de cálcio, formando

minúsculos agrupamentos de íons circundados por uma camada de proteína (HOLT, 2004). Segundo SMYTH et al. (2004), além da função nutricional, a caseína é o meio pelo qual grande quantidade de cálcio pode passar pelo epitélio mamário sem provocar problemas de calcificação.

O número de grupos fosforilados (P) ligados às caseínas é variável, de 1P a 3P em kCNs, 4P a 5P em bCNs, 8P a 9P em aS1CN e 10P a 13P em aS2CN (FARRELL et al., 2004); (BIJL et al., 2014; NG-KWAI-HANG, 2011). Através destes locais de fosforilação, as caseínas se ligam às entidades hidratadas de fosfato de cálcio presentes nas micelas de caseína, estabilizando sua estrutura (FARRELL, 2011). Cerca de metade dos kCNs são glicosilados com cadeias oligossacarídicas curtas em um ou vários locais de treonina, e a maioria dos kCNs é fosforilada em Ser149 (FARRELL, 2011); o tamanho da micela de caseína foi correlacionado com a presença de glicosilação em kCN (BIJL et al., 2014).

Cerca de 95% da caseína no leite está presente na forma de partículas coloidais, conhecidas como micelas (Figura 1), que é a responsável pela estabilidade térmica do leite (FOX; BRODKORB, 2008). A estrutura interna da micela de caseína é constituída predominantemente por α s1-, α s2-, β -caseína e de nanopartículas de fosfato de cálcio coloidal, enquanto a κ -caseína está localizada preferencialmente na superfície da micela (DALGLEISH, 2011). A composição e estrutura das micelas de caseína têm sido estudadas por mais de 40 anos, e as descrições disponíveis são bastante precisas, embora ainda controversas (HORNE, 2006; QI, 2007). O consenso é que a estrutura das micelas de caseína é principalmente estabilizada por interações hidrofóbicas e iônicas (HOLT et al., 2003).

Figura 1: Estrutura de uma micela de caseína.



Fonte: Modificado de TEST KAPPA, 2010.

A caseína α_1 precipita com níveis de cálcio muito baixos, enquanto a caseína α_2 é mais sensível à precipitação pelo Ca^{2+} , diferentemente das outras caseínas, a κ -caseína é uma glicoproteína e possui apenas um grupo fosfoserina, sendo, portanto, estável na presença de íons de cálcio e assumindo importante papel na estabilidade da micela de caseína. Por ser mais fosforilada que a κ -caseína, a β -caseína é mais sensível a altas concentrações de sais de cálcio, embora seja menos sensível a precipitação com cálcio do que as caseínas α (WALSTRA, 1999).

A proteína pode ter impacto no metabolismo (CLAUSEN et al., 2015) e existem indicações de que os hidrolisados de caseína exercem efeitos anti-obesidade em camundongos (LILLEFOSSE et al., 2013) e podem aliviar a inflamação em crianças (VON BERG et al., 2008). Hidrolisados de caseína são usados para o controle dietético da alergia ao leite de vaca e, portanto, são desprovidos de isótopos de proteínas alergênicas. Do ponto de vista da indústria, as caseínas são os componentes mais importantes do leite. As propriedades nutricionais, sensoriais e de textura, dos principais produtos lácteos, como leite fluido, queijo e iogurte derivam das propriedades das caseínas (DE KRUIF et al., 2012).

A extensa hidrólise enzimática gera sequências bioativas e produz predominantemente peptídeos menores (95% menor que 1 kDa). Como tal, hidrolisados extensos de caseína podem variar em partes peptídicas e em proteínas do leite com sequências bioativas únicas (LAMBERS et al., 2015). Trabalhos recentes (FIGUEROA et al., 2014; GROEN et al., 2012; KINSEY et al., 2014; MADZIMA et al., 2014; ORMSBEE et al., 2015; SNIJDERS et al., 2015). sugerem que fontes de baixa caloria (~ 150 kcal) e ricas em proteínas podem ser benéficas ou não prejudiciais ao metabolismo, saúde e composição corporal quando consumidas como um lanche ~ 30 min antes de dormir (uma noite) (FIGUEROA et al., 2014; GROEN et al., 2012; KINSEY et al., 2014; MADZIMA et al., 2014) e quando combinado com o exercício por um período mais longo (ou seja, 4 a 12 semanas) (ORMSBEE et al., 2015; SNIJDERS et al., 2015). Em geral, a ingestão de proteínas suprime o apetite, aumenta o gasto energético e a massa muscular e diminui a gordura corporal (ARCIERO et al., 2013; ASTRUP, 2005; LORENSEN et al., 2012; MARSSET-BAGLIERI et al., 2014). A proteína caseína (CAS) foi designada como um lanche ideal na hora de dormir porque é lenta para digerir e aumenta a síntese de proteína muscular (BOIRIE et al., 1997; DANGIN et al., 2001), tornando-a ideal para a ingestão antes do sono. De fato, os dados mostram que a ingestão aguda de CAS (30-40 g por porção), comparada a um placebo não nutritivo, é adequadamente digerida/absorvida e aumenta a síntese proteica muscular durante a noite quando fornecida antes do sono (GROEN et al., 2012).

Embora a maior parte da caseína no leite seja digerida e utilizada como aminoácidos livres, a clivagem proteolítica da caseína por enzimas nativas ou bacterianas produz peptídeos com uma ampla variedade de propriedades biologicamente relevantes (FITZGERALD; MURRAY; WALSH, 2004).

Uma dieta rica em produtos lácteos com baixo teor de gordura tem sido associada a efeitos anti-hipertensivos em pacientes com hipertensão estágio I (CONLIN et al., 2000) sugerindo que os componentes bioativos do leite podem contribuir para melhorar o controle da pressão arterial. Os estudos iniciais em ratos propensos ao desenvolvimento de hipertensão espontânea e acidente vascular cerebral examinaram os efeitos terapêuticos das preparações de caseína de leite digeridas com tripsina e conseguiram identificar 3 peptídeos derivados de caseína com atividade anti-hipertensora. Experiências *in vitro* e *in vivo* demonstraram que esses peptídeos são potentes inibidores da enzima conversora de angiotensina I (KARAKI et al., 1990). A inibição da enzima conversora da angiotensina I suprime a geração do peptídeo angiotensina II, um potente vasoconstritor, do substrato circulante da angiotensina I (revisado por Fitz Gerald et al., FITZGERALD; MURRAY; WALSH, 2004).

4. MATERIAL E METODOLOGIA

Trata-se de um estudo experimental realizado no NAEVI – Núcleo Avançado de Estudos da Vida (biotério) e laboratório de fisiologia (M57A) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA), protocolo no 029/2018 (ANEXO A). Medidas vigorosas foram realizadas para manter o bem-estar animal e minimizar dor e desconforto dos animais de acordo com a Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008; e Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009. Neste experimento, utilizamos o número mínimo de animais necessário para produzir dados científicos confiáveis.

4.1 AMBIENTE

Os animais foram mantidos no Biotério Central da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) em caixas para roedores, com cama de maravalha, em condições de temperatura controlada de $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com luminosidade em ciclo claro/escuro de 12 horas, alimentados com ração comercial balanceada e água potável *ad libitum*.

4.2 AMOSTRA

No total foram utilizados 96 ratos albinos da raça Wistar (*Rattus norvegicus*), sendo 48 fêmeas e 48 machos com 30 dias de vida, onde os sexos foram divididos em dois grupos experimentais.

4.2.1 Grupo dos Machos

4.2.1.1 Grupo machos com dieta de cafeteria (MDC)

Composto por 12 animais machos que recebiam a dieta de cafeteria e foram submetidos à eutanásia ao final com 90 dias de vida, para avaliações anatomopatológicas do fígado e coração e análises bioquímicas.

4.2.1.2 Grupo machos com dieta de cafeteria com suplementação de caseína (MDCC)

Composto por 12 animais machos que recebiam a dieta de cafeteria e aos 60 dias de vida eram suplementados com caseína por 30 dias e submetidos à eutanásia ao final, com 90 dias de vida, para avaliações anatomopatológicas do fígado e coração e análises bioquímicas.

4.2.1.3 Grupo machos controle (MC)

Composto por 12 animais machos que recebiam a dieta padrão e foram submetidos à eutanásia ao final com 90 dias de vida, para avaliações anatomopatológicas do fígado e coração e análises bioquímicas.

4.2.1.4 Grupo machos controle com suplementação de caseína (MCC)

Composto por 12 animais machos que recebiam a dieta padrão e aos 60 dias de vida eram suplementados com caseína por 30 dias e submetidos à eutanásia ao final, com 90 dias de vida, para avaliações anatomopatológicas do fígado e coração e análises bioquímicas.

4.2.2 Grupo das Fêmeas

4.2.2.1 Grupo fêmeas com dieta de cafeteria (FDC)

Composto por 12 animais fêmeas que recebiam a dieta de cafeteria e foram submetidos à eutanásia ao final com 90 dias de vida, para avaliações anatomopatológicas do fígado e coração e análises bioquímicas.

4.2.2.2 Grupo fêmeas com dieta de cafeteria com suplementação de caseína (FDCC)

Composto por 12 animais fêmeas que recebiam a dieta de cafeteria e aos 60 dias de vida eram suplementados com caseína por 30 dias e submetidos à eutanásia ao final, com 90 dias de vida, para avaliações anatomopatológicas do fígado e coração e análises bioquímicas.

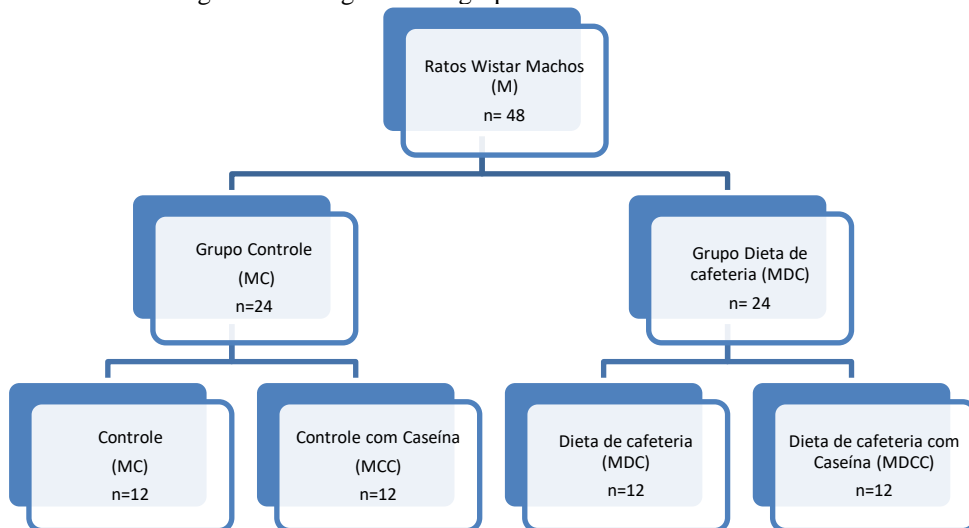
4.2.2.3 Grupo fêmeas controle (FC)

Composto por 12 animais fêmeas que recebiam a dieta padrão e foram submetidos à eutanásia ao final com 90 dias de vida, para avaliações anatomopatológicas do fígado e coração e análises bioquímicas.

4.2.2.4 Grupo fêmeas controle com suplementação de caseína (FDPCC)

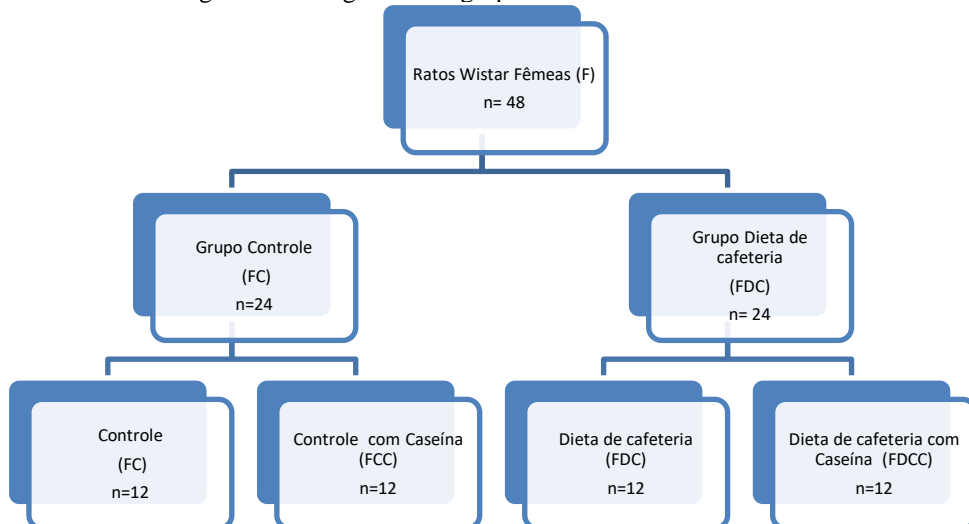
Composto por 12 animais fêmeas que recebiam a dieta padrão e aos 60 dias de vida eram suplementados com caseína por 30 dias e submetidos à eutanásia ao final, com 90 dias de vida, para avaliações anatomopatológicas do fígado e coração e análises bioquímicas.

Figura 2: Fluxograma dos grupos de Ratos Wistar Machos.



Fonte: O autor.

Figura 3: Fluxograma dos grupos de Ratos Wistar Fêmeas.

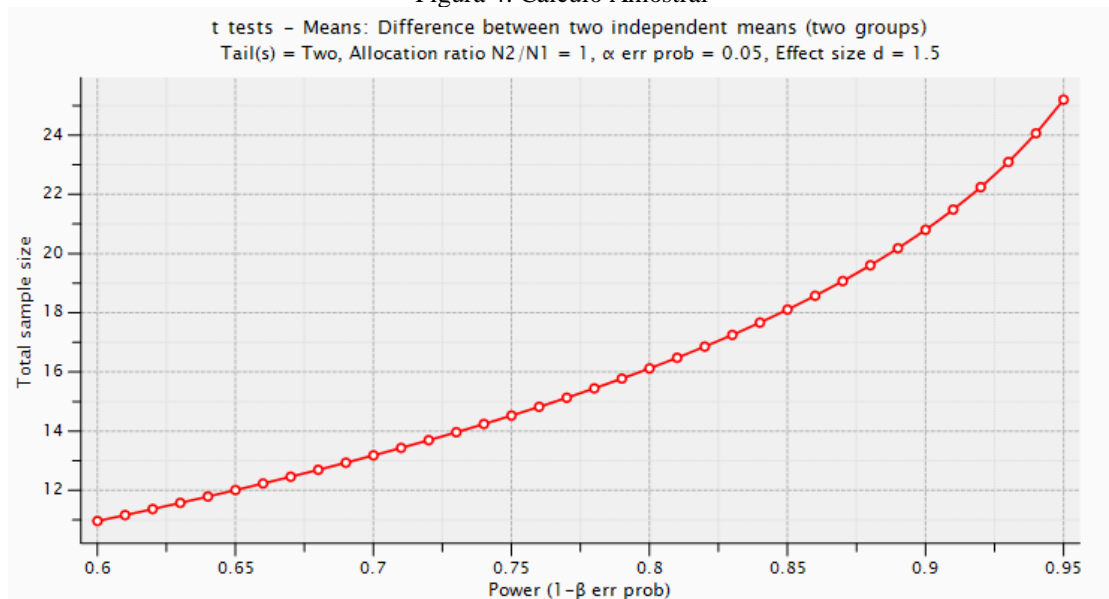


Fonte: O autor.

4.3 CÁLCULO AMOSTRAL

Utilizando o programa G*power para o cálculo amostral constatou-se que para um poder de 85% o n utilizado deveria ser 10 animais por grupo. Considerando eventuais perdas durante o processo experimental e possível erro metodológico no decorrer da pesquisa foi utilizado um n de 12 animais por grupo totalizando 48 animais ao final.

Figura 4: Cálculo Amostral



Fonte: O autor.

4.4 DIETAS

4.4.1 Dieta Padrão (Controle)

Durante o experimento os animais receberam água tratada e ração *ad libitum*. Os animais dos grupos controle (C) alimentaram-se de dieta padrão (NUVILAB-CR1 Nuvital-Colombo - PR, Brasil), com a seguinte composição nutricional:

Composição do Produto: Milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, premix vitamínico mineral e aminoácidos.

Níveis de Garantia por Quilograma do Produto:

Umidade (máx) 12,5%

Proteína bruta (min) 22,0%

Extrato etéreo (min) 4,0%

Matéria mineral (max) 10,0%

Matéria fibrosa (máx) 7,0%

Cálcio (máx) 1,4%

Fósforo (min) 0,8%

Enriquecimento por Quilograma do Produto: Vitaminas: Vitamina A 13.000 UI; vitamina D3 2.000 UI; vitamina E 34 UI; vitamina K3 3mg; vitamina B1 5mg; vitamina B2 6mg; vitamina B6 7 mg; vitamina B12 22mcg; niacina 60mg; ácido pantotênico 20mg; ácido fólico 1mg, biotina 0,05 mg; colina 1900mg. Minerais: Sódio 2700mg; Ferro 50mg; zinco 60mg; cobre 10mg; iodo 2 mg; manganês 60mg; selênio 0,05mg; cobalto 1,5mg; flúor 80mg; Aminoácidos: Lisina 12g; metionina 4000mg. Aditivos: Antioxidante (BHT) 100mg.

4.4.2 Dieta de cafeteria

A dieta de cafeteria foi ofertada *ad libitum* diariamente ao grupo DC (dieta de cafeteria) a partir do 30º dia de vida. Os itens que compõem a dieta foram agrupados em três combinações distintas ofertadas alternadamente (A, B, C – tabela 2). A dieta A era oferecida na segunda, a dieta B na quarta e a dieta C nas sextas-feiras. Compostas por alimentos frescos, refrigerante de cola, ração padrão e água.

Tabela 2 Cardápio de oferta de alimentos hipercalóricos com base em literatura (NASCIMENTO et al., 2008; MORAES et al., 2008; DIDEK D. et al., 2019).

ALIMENTO	CARDÁPIO A					
	Qtd (g)	Kcal/g	Carboidrato (g)	Proteína(g)	Lipídios(g)	Na (Mg)
Ração padrão	1	2,95	0,55	0,22	0,04	0,00
Salgadinho sabor queijo	1	3,92	0,72	0,08	0,09	12,3
Bolacha wafer de chocolate	1	5,56	0,63	0,03	0,51	0,76
Refrigerante de cola	1	0,42	0,11	0,00	0,00	0,05
			CARDÁPIO B			
Ração padrão	1	2,95	0,55	0,22	0,04	0,00
Marshmallow	1	3,35	0,82	0,04	0,00	0,25
Apresentado	1	1,85	0,07	0,13	0,16	11,7
Refrigerante de cola	1	0,42	0,11	0,00	0,00	0,05
			CARDÁPIO C			
Ração padrão	1	2,95	0,55	0,22	0,04	0,00
Salgadinho sabor bacon	1	5,08	0,521	0,08	0,29	6,40
Bolacha maria	1	4,30	0,73	0,07	0,12	4,33
Refrigerante	1	0,42	0,11	0,00	0,00	0,05

Fonte: O autor.

4.4.3 Suplementação com Caseína

Aos 60 dias de vida os grupos MDCC, MCC, FDCC, FCC iniciaram a suplementação por 30 dias com caseína pelo método de gavagem. A caseína utilizada foi Gold Standart 100% Casein da marca comercial Optimum Nutrition (foto ilustrativa). As doses de caseína foram baseadas na dose utilizada pelos humanos (que varia de 30 a 35 gramas por dia), calculadas conforme metabolismo dos animais, onde foram administrados 0,3gramas de caseína para 2ml água para cada animal, uma vez ao dia, no período da manhã, sempre no mesmo horário, pois por ser uma proteína de lenta absorção, é indicada para se tomar antes de dormir, tendo em vista que os ratos dormem durante o dia.

Figura 5: Imagem da caseína utilizada na suplementação dos ratos, caseína *Gold Standart 100% Casein* da marca comercial Optimum Nutrition



Amount Per Serving		Calories from Fat 10	
Calories	120		
Total Fat 1g		% Daily Value*	
Saturated Fat 0.5g		1%	
Trans Fat 0g		0%	
Cholesterol 15mg		3%	
Sodium 240mg		5%	
Total Carbohydrate 3g		1%	
Dietary Fiber 0g		0%	
Sugars 1g		0%	
Protein 24g		48%	
Vitamin A 0%		Vitamin C 0%	
Calcium 50%		Iron 0%	

Calories	
Calories	2,000 2,500
Total Fat	Less than 65g 80g
Sat. Fat	Less than 20g 25g
Cholesterol	Less than 300mg 300mg
Sodium	Less than 2,400mg 2,400mg
Total Carbohydrate	300g 300g
Dietary Fiber	25g 30g
Protein	80g 65g

Servings per gram:
 Fat 9 • Carbohydrate 4 • Protein 4

INGREDIENTS: Modified Casein, Cookie Crumbs (Enriched Flour, Wheat Flour, Niacin, Reduced Iron, Thiamin, Mononitrate, Riboflavin, Folic Acid), Sugar, Palm and Palm Kernel Oil Blend, Cocoa Processed with Alkali, High Fructose Corn Syrup, Corn Flour, Salt, Dextrose, Sodium Bicarbonate, Soy Lecithin, Natural and Artificial Flavors, Salt, Lecithin, Gum Blend (Cellulose Gum, Xanthan Gum, Carrageenan), Acesulfame Potassium, Sucralose, Ammonium Bicarbonate.

ALLERGEN INFORMATION: CONTAINS MILK, SOY (LECTHIN), AND WHEAT INGREDIENTS.

4.5 CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS

4.5.1 Determinação da evolução do peso e do ganho de peso

O controle do peso dos animais foi realizado semanalmente, com pesagem em balança digital Bel Engineering. O ganho de peso foi expresso em termos absolutos (gramas adquiridas/período). Para realização da pesagem dos animais, colocou-se um becker de polipropileno na balança, desconsiderando-se o peso do mesmo através da função “tarar”, em seguida colocava-se em seu interior um rato por vez, obtendo assim, o peso do animal. O ganho de peso absoluto foi calculado subtraindo-se da semana em questão o peso inicial do

rato, sendo assim, o ganho de peso absoluto da semana 5, por exemplo, reflete o ganho de peso do animal desde o início do experimento até a semana 5.

4.5.2 Consumo alimentar (Kcal/semana)

Desde os 30 dias de vida até a data de sacrifício os alimentos foram pesados para calcular a quantidade de alimento consumido semanalmente pelos animais através da fórmula: (quantidade colocada de alimento - quantidade restante de alimento na grade) /número de animais na caixa.

4.5.3 Índice de Adiposidade

A obesidade também foi avaliada pelo peso das gorduras e pelo cálculo do índice de adiposidade. O índice de adiposidade (IA) *post-mortem* foi calculado utilizando a fórmula: IA = [gordura corporal/ peso corporal] x 100. A gordura corporal (g) foi medida pela soma dos seguintes constituintes do tecido adiposo: gordura perigonadal + gordura retroperitoneal + gordura mesentérica (JACOBSEN et al, 2017).

4.5.4 Índice de Lee

Foi medido o comprimento naso-anal (cm) e peso do animal (g) para cálculo do índice de Lee (valor preditivo de obesidade em roedores) (BERNARDIS; PATTERSON, 1968) de acordo com a Equação abaixo:

$$\text{Índice de Lee} = \left(\frac{\sqrt[3]{\text{Massa corporal (g)}}}{\text{Comprimento nasoanal (cm)}} \right) \times 1000$$

4.6 TESTES INTRAPERITONEAIS DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (IGT)

Os animais foram mantidos em jejum por 10 a 12 horas para realização dos testes de IGT. Foi utilizado glicose 50% (1 g de glicose/kg de peso corporal) injetado no peritônio dos ratos. Uma gota de sangue foi obtida através do corte da cauda para medir a glicose no sangue usando um glicosímetro no início (0 min), 30, 60 e 90 min após a injeção de glicose. O glicosímetro utilizado foi o da marca comercial G tech free.

4.7 TESTE DE RESISTÊNCIA À INSULINA

Os animais foram mantidos em jejum por oito horas para a realização dos testes. Foi utilizado Insulina Humana Regular – Laboratório Lilly (1UI/ kg de peso corporal) injetado no peritônio dos ratos. Uma gota de sangue foi obtida através do corte da cauda para medir a glicose no sangue usando um glicosímetro no início (0 min), 5, 10, 15, 20 e 25 min após a injeção de insulina. O glicosímetro utilizado foi o da marca comercial G tech free.

4.8 ATO OPERATÓRIO, COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO E EUTANÁSIA

Aos 90 dias de vida os animais foram pesados, marcados e submetidos à ortoeutanásia e exames *post morte* (coleta de sangue e órgãos), realizados no laboratório de fisiologia M57A da UEPG. Como o uso de anestésico altera o perfil glicêmico (OLIVEIRA, 2013) e para a realização desse projeto os dados de glicemia são de relevante importância, o método de ortoeutanásia determinado foi o deslocamento cervical por guilhotina. As gorduras mesentérica, perigonadal, retroperitoneal foram removidas, lavadas e pesadas, assim como o fígado e coração para posterior análise, com a finalidade de estimar o efeito da suplementação com caseína em animais controle e obesos.

4.9 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Aos 60 dias de vida foi realizada a glicemia capilar em todos os animais, para uma comparação com a glicemia ao final do experimento. Todos os animais tiveram o sangue coletado no 90º dia de vida (cerca de 2 ml), que foram destinados a exames laboratoriais, realizados no laboratório de análises clínicas da UEPG. O sangue coletado foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos em Centrifuga de mesa Celm LS-3 plus, para as seguintes dosagens: triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL; transaminases (TGO/TGP), gama gt. Estes exames foram realizados pelo método enzimático colorimétrico no Analisador Bioquímico CT300i Wiener. De acordo com Harkness e Wagner (1993) os parâmetros bioquímicos de referência para ratos compõem uma aproximação e não necessariamente representam os níveis normais encontrados e podem variar em diferentes populações de ratos. As dosagens foram realizadas com reagentes da marca (Wiener). Foi verificado junto ao fabricante que não há restrição quanto à técnica nem ao procedimento analítico para amostras biológicas de ratos.

4.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA

As análises histológicas foram realizadas com o intuito de caracterizar as alterações do fígado e do coração induzidas pela dieta de cafeteria e comparadas com os animais submetidos a suplementação com caseína. Os órgãos dos animais foram retirados e pesados em balança digital de precisão da marca Quimis, modelo Q-500L210C. Os órgãos retirados e pesados foram o fígado e coração, os quais foram conservados em solução crioprotetora (solução de sacarose a 30%) e congelados a -80°C até serem encaminhados para exame anatomopatológico.

4.11 HISTOLOGIA (OIL RED O)

Os corações dos ratos foram perfundidos com 20 ml de solução salina tamponada com tampão fosfato (PBS). Em seguida, os corações foram embebidos em meio de congelamento (OCT: *Optimal Cutting Temperature*) e congelados a -80°C . Usando um criostato, secções em série de 10 μm de espessura foram cortadas ao longo de 480 μm de comprimento a partir do ponto em que os três folhetos da válvula aórtica foram visualizados. Doze lâminas contendo 4 secções cada, foram montadas. As lâminas foram incubadas em PFA 4% por 10 minutos e em seguida coradas com oil red O como descrito por Paigen (1987). Os fígados foram seccionados e corados com oil red O como descrito previamente por Mehlem (2013). A coloração oil red O foi realizada nos corações e fígados para verificação do conteúdo lipídico. As imagens foram digitalizadas em microscópio Leica DMI600B ou Olympus IX 70 com lentes objetivas de 4X para as secções da aorta e 10X para as secções do fígado.

4.12 VARIÁVEIS ANALISADAS

Primeiramente a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente os ratos foram comparados, de acordo com o tipo de dieta pelo teste de Anova de duas vias, com o post hoc de Bonferroni. Todas as análises foram realizadas no software Graphpad Prisma Versão 7.0, com um nível de significância estabelecido em 95%.

4.13 DESENHO EXPERIMENTAL



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

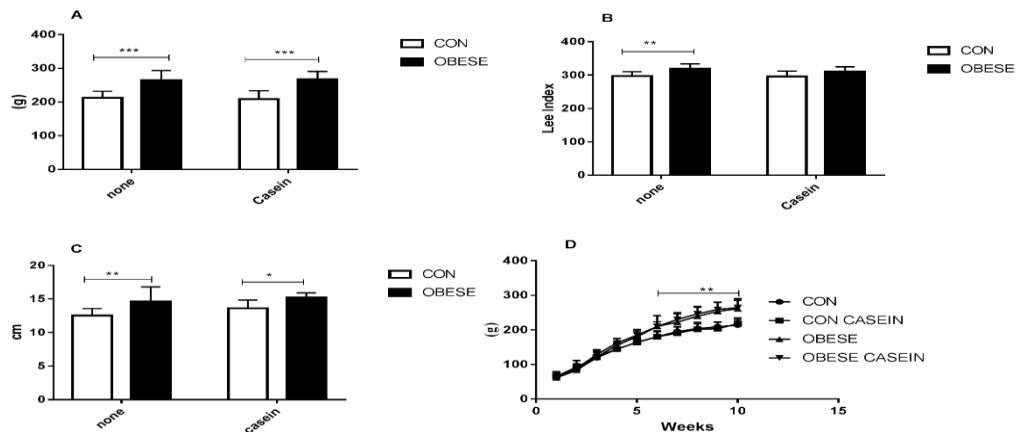
5.1 AVALIAÇÃO ATRAVÉS DOS ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS

Com a finalidade de avaliar o efeito da dieta de cafeteria os animais foram recebidos aos 21 dias de vida, passando uma semana de adaptação com ração padrão e água, e então, aos 30 dias de vida foram submetidos a dieta de cafeteria (os grupos FDCC, MDCC, FDC e MDC). A dieta foi oferecida por 60 dias consecutivos, e aos 90 dias de vida foram sacrificados. Alguns estudos com estes tipos de dietas relataram várias alterações no organismo, dentre as quais o acúmulo de gordura subcutânea, esteatose hepática, aumento da pressão arterial e aumento da glicemia (MIESEL et al., 2010; MULLER et al., 2010).

Avaliando a circunferência abdominal, o peso corporal final, a evolução do peso corporal e o índice de Lee observou-se diferença significativa $p < 0,05$ nas fêmeas de dieta de cafeteria (FDC) quando comparadas as fêmeas controle (FC) em 60 dias de dieta (Figura 6).

No grupo dos machos não houve diferença significativa entre o grupo MC e o grupo MDC (figura 7). Estes resultados podem sugerir um período maior necessário para a adaptação metabólica dos animais tratados com a dieta de cafeteria, sendo que todos os artigos pesquisados para este estudo demonstram ser importante um intervalo mínimo de 8 semanas de tratamento para que se possa observar alterações significativas dos parâmetros analisados (MARQUES et al., 2015). Castro et al. (2015), traz que a administração de uma dieta de cafeteria em ratos Wistar durante os primeiros meses de vida e também na fase adulta foi capaz de provocar um aumento estável no peso corporal, juntamente ao acúmulo de gordura corporal e alterações metabólicas.

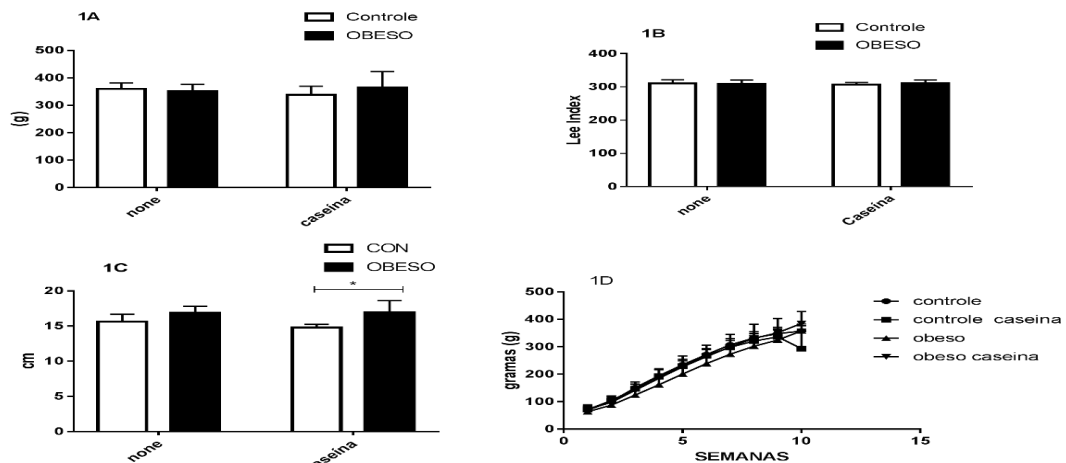
Figura 6: Efeito da suplementação com caseína em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria



Fonte: O autor.

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos acima das barras representam diferentes entre os grupos. A: peso corporal final; B: Índice de Lee; C: circunferência abdominal; D: Evolução do peso corporal (n=12 animais por grupo). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Figura 7: Efeito da suplementação com caseína nos dados antropométricos de ratos machos tratados com dieta de cafeteria



Fonte: O autor.

Os dados são a média \pm DP. 1A peso corporal final; 1B Índice de Lee; 1C Circunferência abdominal; 1D Evolução do peso corporal. Símbolos sobre as barras indicam diferenças de * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$.

Com a finalidade de avaliar a influência da suplementação de caseína tanto nos grupos controle quanto nos grupos de Dieta de cafeteria, foram suplementados com caseína (os grupos FCC, FDCC, MCC e MDCC) e foi administrado água para os grupos (FDC, FC, MC e MDC). A suplementação foi realizada por 30 dias consecutivos, devido ao fato de cada mês de vida do rato ser equivalente a aproximadamente dois anos de vida do humano adulto (ALMEIDA et al., 2014).

Ao final do experimento, observa-se um menor ganho de peso na evolução corporal apenas no grupo FCC em relação ao grupo FC, com uma diferença significativa de $p < 0,05$, o

que nos mostra que o grupo suplementado com caseína ganhou menos peso que o grupo não suplementado (figura 6).

Os grupos que receberam suplementação de caseína, tanto fêmeas como machos, em relação aos outros índices antropométricos não obtiveram diferença significativa. O que nos mostra um resultado contrário ao esperado. O consumo de caseína não engorda. O suplemento de caseína consiste na proteína isolada, e o ganho ou a perda de peso acontecerá de acordo com a dieta e o metabolismo de cada organismo. A possibilidade de utilizar a caseína para perder peso existe, pois, o suplemento não é calórico e favorece a sensação de saciedade, podendo ajudar a equilibrar a dieta, mas o consumo de alimentos hipercalóricos precisa diminuir, o que justamente acontece o contrário no grupo dieta de cafeteria, podendo ser esta uma possível explicação para os resultados. Demling e DeSanti (2000), demonstraram um impacto significativo de um hidrolisado de caseína na taxa de diminuição da gordura e aumento de massa magra. Além do mais, por possuir uma digestão lenta, essa proteína retarda a sensação de saciedade, podendo auxiliar na redução de peso. Em compensação, se ela for tomada em grande quantidade, será capaz de incentivar o aumento de peso, pois será armazenada em forma de gordura.

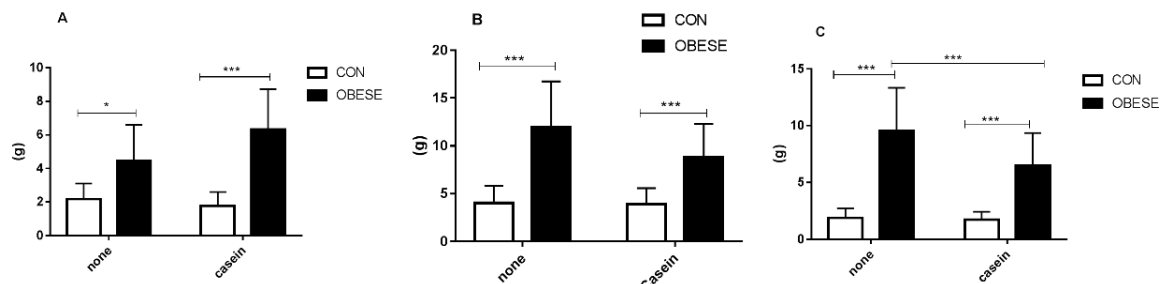
As proteínas também possuem efeito na saciedade, que pode estar relacionado às alterações fisiológicas que ocorrem com a ingestão desse nutriente, como a liberação de hormônios que inibem o apetite (ESTEVES; ÁVILA; ALMEIDA, 2010). A liberação de determinados hormônios pelas células intestinais, como a colecistocinina (CCK), peptídeo YY (PYY) e grelina, em consequência da ingestão de alimentos, pode mediar a sensação de saciedade. Macronutrientes, em especial a proteína e o lipídio, ajudam a promover a liberação de CCK, sendo que esta auxilia na liberação de PYY (contribui para a redução na ingestão alimentar) e suprime a liberação de grelina (aumenta a sensação de fome), o que leva a uma maior sensação de saciedade (BRENNAN et al., 2012).

5.2 AVALIAÇÃO DAS GORDURAS PERIGONADAL, RETROPERITONEAL E MESENTÉRICA

Em relação ao efeito da dieta de cafeteria no tecido adiposo, foi encontrada diferença significativa na quantidade de gordura perigonadal, retroperitoneal e mesentérica (Figura 8 e 9). Brahmanaidu et al. (2014), mostrou em seu estudo um aumento de peso corporal e índice de massa corpórea dos animais alimentados com dieta hipercalórica, onde o aumento de consumo de caloria resultou em maior depósito de tecido adiposo, demonstrando a efetividade

da dieta de cafeteria na indução a obesidade. Isso pode ser explicado devido à composição da dieta de cafeteria, induzindo aos animais uma maior sobrecarga de lipídios e levando a formação de triacilgliceróis. Embora os machos não apresentem diferença na maioria dos índices antropométricos, apresentaram significância nas gorduras, sendo que estudos mostram que o aumento da gordura visceral, mesmo sem alteração do peso corporal normal, pode aumentar a prevalência de doenças cardiovasculares (PASTORE et al., 2010).

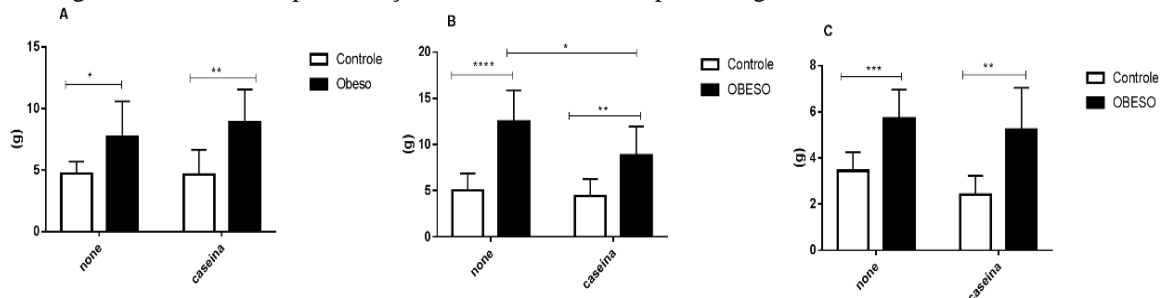
Figura 8: Efeito da suplementação com caseína no peso dos estoques de gordura em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças entre os grupos. A: Gordura perigonadal; B – Gordura retroperitoneal e C: Gordura mesentérica (n=12 animais). * p <0,05; ** p <0,01; *** p <0,001 e P <0,0001.

Figura 9: Efeitos da suplementação com caseína sobre o peso das gorduras em ratos machos adultos



Fonte: O autor

A: Gordura perigonadal; B: Gordura retroperitoneal; C: Gordura mesentérica. Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças de * p <0,05; ** p <0,01; *** p <0,001 e p <0,0001.

As médias das gorduras nos machos repetiu um padrão das fêmeas e também apresentou diferença significativa. Se comparado o grupo MDC com o grupo MDCC, a gordura retroperitoneal do grupo MDCC diminuiu, mostrando diferença significativa, e nas fêmeas a gordura mesentérica mostrou diferença significativa, diminuindo quando comparado o grupo FDCC com o grupo FDC. No estudo de Clausen et al (2015), camundongos C57BL/6 propensos à obesidade alimentados com dietas ocidentais com caseína hidrolisada intensivamente após 8 semanas de intervenção teve um ganho de massa corporal ~ 55% menor e uma redução de ~ 70% na massa de tecido adiposo branco, em comparação com os

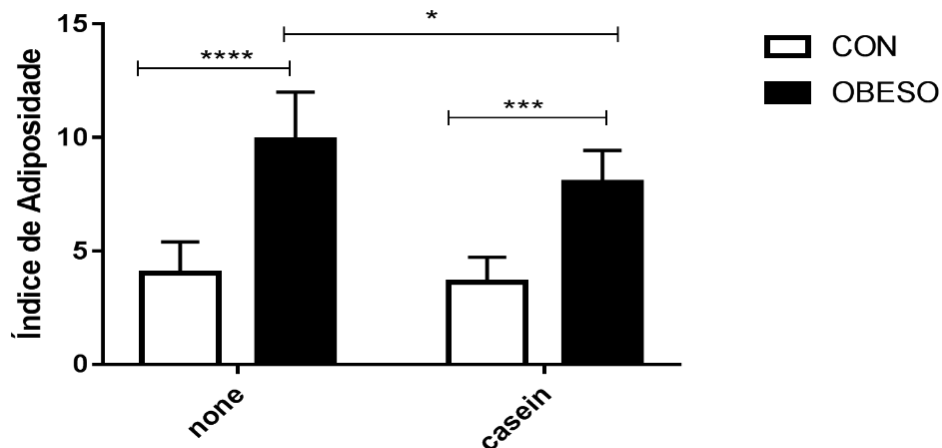
camundongos alimentados com dietas com caseína micelar. A dieta de cafeteria promove aumento nos depósitos de gordura retroperitoneal e epididimal dos ratos Wistar e ativa o fluxo simpático tanto para o tecido marrom quanto para o branco, influenciando o aumento de sua celularidade (QUEIROZ, 2010).

5.3 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

As figuras 10 e 11 apresentam o índice de adiposidade, o qual se mostrou menor no grupo FDCC em relação ao grupo FDC, com $p < 0,05$ quando analisamos o efeito da caseína. E ao analisarmos o efeito da dieta de cafeteria podemos observar que os grupos da dieta tiveram uma média significativamente maior que os grupos controle.

Demling e DeSanti (2000), mostraram em seu estudo com policiais que por 12 semanas os ganhos de massa magra duplicaram e a perda de gordura aumentou 50% no grupo caseína quando comparado ao grupo proteína do soro do leite. Porém, outro estudo realizado por Klaus (2005), mostra que o aumento da relação proteína-carboidrato de uma dieta com alto teor lipídico atrasa, mas não previne o desenvolvimento da adiposidade.

Figura 10: Efeito da suplementação com caseína do índice de adiposidade em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria

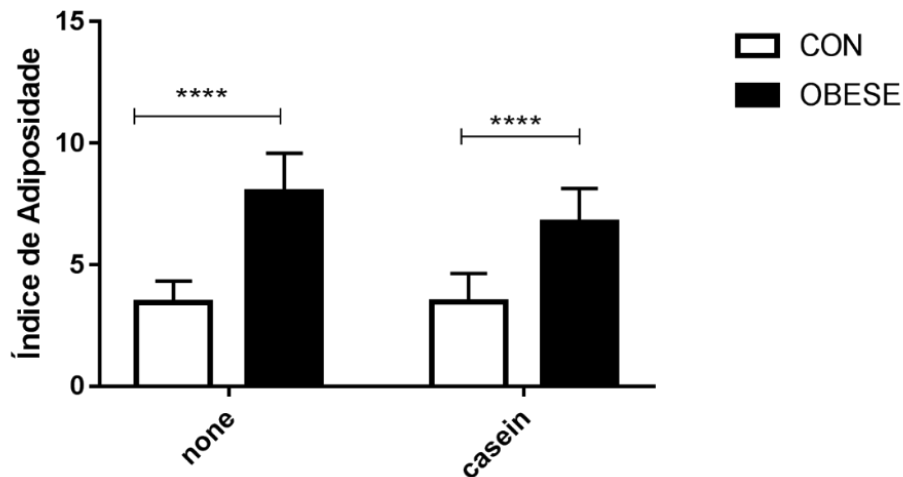


Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças entre os grupos (n=12 animais).

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$.

Figura 11: Efeitos da suplementação com caseína no índice de adiposidade de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças de entre os grupos (n=12 animais). *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 e p<0,0001.

Importante ressaltar que os níveis de leptina se encontram geralmente mais altos em fêmeas do que em machos, sugerindo uma interação entre o tecido adiposo e a produção hormonal, sendo possivelmente a sua liberação modulada de diferentes formas em machos e fêmeas, por hormônios androgênicos e estrogênicos (CASABIELL et al., 2001; MYSTKOWSKI; SCHWARTZ, 2000; PROLO et al., 1998). Foi observado que a concentração de leptina é duas a três vezes maior em mulheres do que em homens, devido a sua composição corporal, pois apresentam maiores índices de tecido adiposo quando comparado aos homens (AHIMA; FLIER, 2000), o que pode explicar os melhores resultados para o grupo das fêmeas.

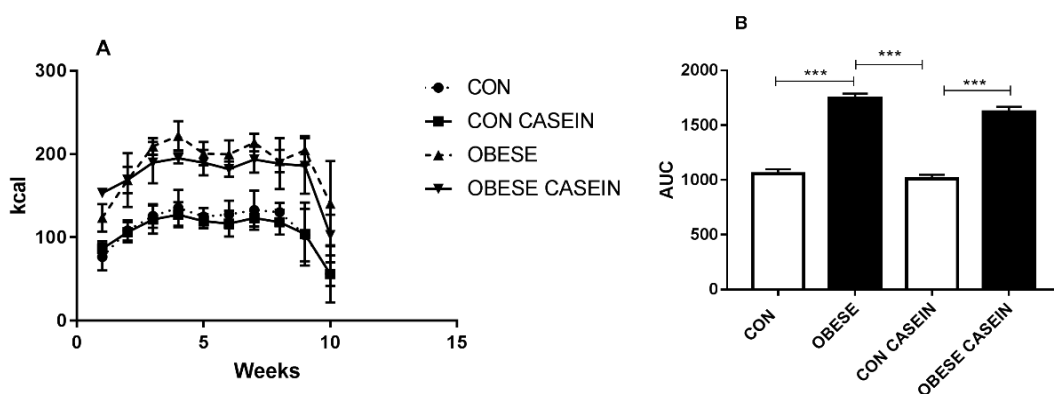
5.4 CONSUMO ALIMENTAR

A ingestão de ração, medida em gramas ingeridas/animal, foi significativamente menor no grupo dieta de cafeteria do que no grupo controle em todas as semanas do experimento (p<0,001), dados não mostrados. Quando se analisa a ingestão acumulada de Kcal ingerida pelos animais de cada grupo, observa-se uma ingestão energética significativamente maior tanto nas fêmeas quanto nos machos que receberam dieta de cafeteria (Fêmeas: 187,6 kcal/animal/dia; Machos: 195,4 Kcal/animal/dia) em relação ao grupo controle (Fêmeas: 112,2 kcal/animal/dia; Machos: 160,4 Kcal/animal/dia), com p<0,05. As fêmeas obesas ingeriram em calorias, 67,2% a mais que a fêmeas controle e os machos

obesos em média 21% a mais que os machos controle. Nos machos foi verificada uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo MC e o MCC, onde o grupo que teve maior média de consumo foi o grupo suplementado com caseína, o que contraria os resultados esperados (Figuras 12 e 13).

A redução do consumo alimentar é tida como um dos efeitos fisiológicos positivos das proteínas do leite sobre o controle de taxas metabólicas. Tal efeito é explicado em parte, pela potencial ação dos peptídeos e aminoácidos destas proteínas sobre a liberação de hormônios intestinais que regulam a saciedade (BOWEN; NOAKES; CLIFTON, 2006; SOUSA et al., 2012). Assim, essa ação poderia ser aplicada como ferramenta no tratamento e prevenção de doenças endocrinometabólicas (JAKUBOWICZ; FROY, 2013). O aumento da ingestão de proteínas na dieta auxilia tanto na perda ponderal como no não ganho de peso. A termogênese induzida pela dieta é maior e mais prolongada após o consumo de proteínas, seguida pelos carboidratos e posteriormente pelos lipídios. Uma das razões desse efeito termogênico das proteínas é o aumento da síntese proteica (ESTEVES; ÁVILA; ALMEIDA, 2010). Situações que aumentam a concentração plasmática de leptina levam à inibição dos neurônios do núcleo arqueado, causando diminuição da ingestão alimentar. De forma semelhante em situação oposta, em resposta a baixas concentrações de leptina, ocorre ativação dos neurônios que sintetizam NPY estimulando a ingestão de alimentos (RIBEIRO, 2007).

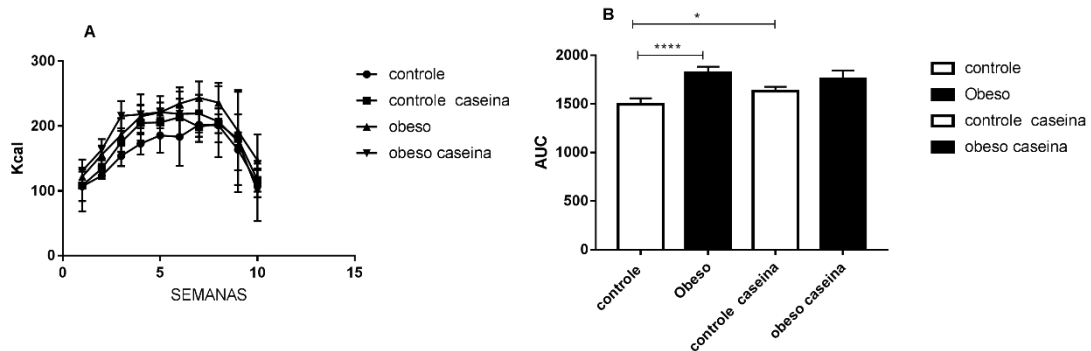
Figura 12: Efeito da suplementação de caseína no consumo alimentar de ratas fêmeas alimentadas com dieta cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras representam diferenças entre os grupos. A: Ingestão alimentar kcal; B: Área sobre a curva (n=12 animais). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$.

Figura 13: Efeito da suplementação de caseína no consumo alimentar de ratos machos alimentados com dieta cafeteria



Fonte: O autor

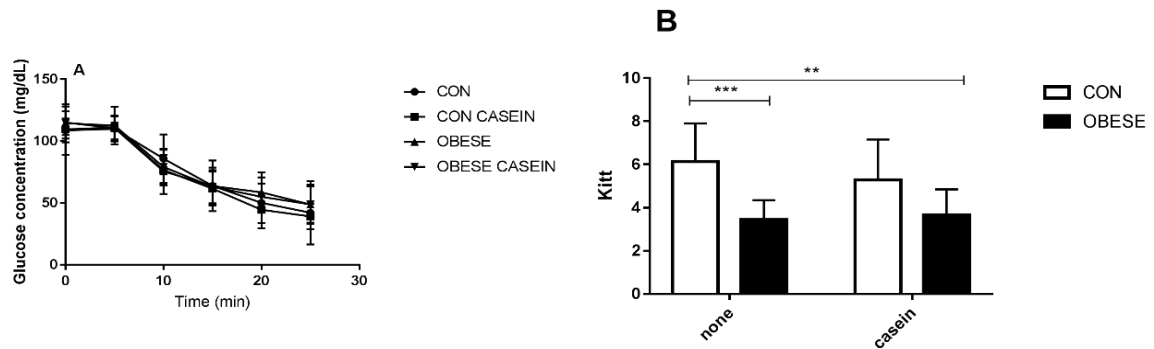
Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras representam diferenças entre os grupos. A: Ingestão alimentar kcal; B: Área sobre a curva (n=12 animais). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$

5.5 TESTE DE RESISTÊNCIA A INSULINA

Para a avaliação da sensibilidade à insulina foi feito um teste de tolerância à insulina curto (ITT de 25') em animais submetidos a jejum prévio de 8 a 10 horas. Neste teste a taxa de decaimento da glicose é avaliada ao longo de 25 minutos após a injeção de insulina intraperitoneal. Como demonstrado abaixo (figura 15), os valores basais de glicemia, correspondente ao tempo 0 min, mostraram-se menores nos animais controles quando comparado aos animais de dieta de cafeteria. A reduzida, ou quase nula, diminuição da glicemia após administração intraperitoneal de insulina sugere resistência a esse hormônio, o que é observado no grupo de dieta de cafeteria. Ao analisarmos a área sob a curva as ratas do grupo dieta de cafeteria mostraram uma resistência à insulina significativamente maior que as ratas controle (figura 14).

A insulina também preenche os critérios necessários para função de sinal aferente de adiposidade, pois circula em níveis relativamente proporcionais a massa adiposa e atua no sistema nervoso central onde possui receptores em áreas envolvidas no controle da ingestão alimentar. A insulina é captada pelo tecido cerebral, passa pela barreira hematoencefálica, e age como um sinal anoréxico, induzindo hipofagia e perda de peso (ARAÚJO; TORSONI; VELLOSO, 2010; VELLOSO et al., 2008).

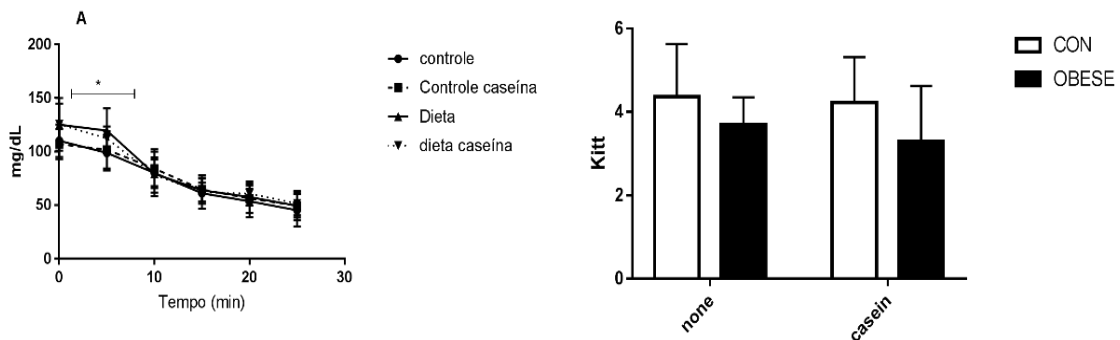
Figura 14: Efeito da suplementação de caseína no teste de tolerância a insulina e no índice de desaparecimento da glicose em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças entre os grupos. A: Teste de tolerância à insulina; B: Índice de decaimento da glicose. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$

Figura 15: Efeito da suplementação de caseína no teste de tolerância a insulina de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças entre os grupos. A: Teste intraperitoneal de tolerância à insulina; B: Índice de decaimento da glicose. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$

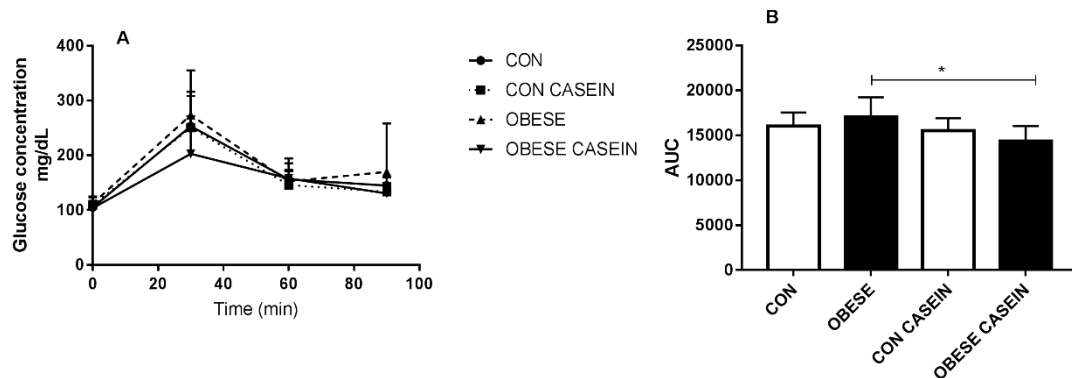
5.6 TESTE INTRAPERITONEAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE

A figura 16 abaixo mostra a média e desvios-padrão das glicemias durante o teste intraperitoneal de tolerância a glicose aos 85 dias de vida. O grupo dieta de cafeteria apresentou maior glicemia no ponto após a administração da carga de glicose (30 minutos) com média $176,9 \pm 68,7$ mg. Nos demais pontos não houve diferença estatisticamente significativa. Quando se observa a área sob a curva, o efeito da caseína foi significativo no grupo FDCC, quando comparado ao grupo FDC, diminuindo a tolerância a glicose das fêmeas que receberam dieta de cafeteria.

O efeito das proteínas no metabolismo da glicose depende da composição de aminoácidos, da cinética de digestão das proteínas e da utilização de aminoácidos no trato gastrointestinal (TGI). Em geral, quando consumidas com carboidratos, as proteínas da dieta

diminuem a resposta glicêmica (AKHAVAN et al., 2010; PROMINTZER; KREBS, 2006). Os peptídeos produzidos durante diferentes estágios de digestão da caseína podem expressar uma variedade de funções no TGI (FUKUSHIMA, 2004; SHIMIZU, 2004), incluindo a regulação das enzimas digestivas, a modulação da absorção de nutrientes no trato intestinal e também os sinais metabólicos pós-absorção. Duarte et al. (2013), mostrou que, assim como o estudo em questão, a obesidade provocada pela dieta hiperlipídica palatável não alterou os níveis de glicose e insulina de jejum dos animais.

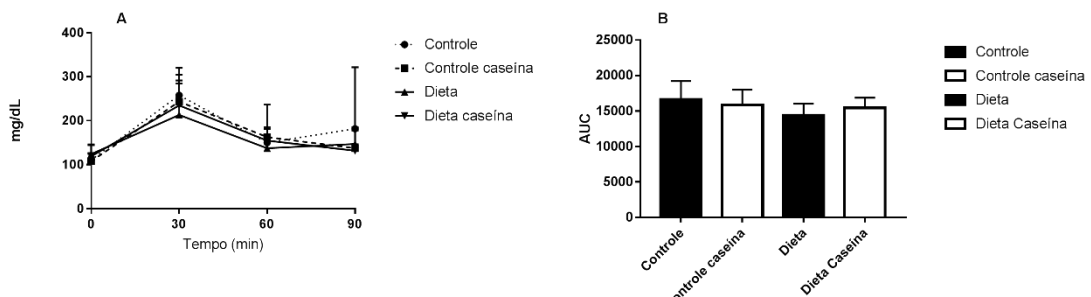
Figura 16: Efeito da suplementação de caseína no teste de tolerância oral a glicose em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. A: concentração de glicose por tempo; B: Área sob curva do gráfico. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças de $p < 0,05$ entre os grupos ($n=12$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$

Figura 17: Efeito da suplementação de caseína no teste de tolerância oral a glicose em ratos machos alimentados com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. A: concentração de glicose por tempo; B: Área sob curva do gráfico. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças de $p < 0,05$ entre os grupos ($n=12$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$

5.7 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Ao analisar os parâmetros bioquímicos em 60 dias de indução da dieta de cafeteria, observa-se que os níveis triglicéridos das fêmeas dieta de cafeteria (FDC) foram significativamente maiores em relação ao grupo controle (FC).

Os níveis de HDL-c mostraram-se estatisticamente maiores para as FC em relação ao grupo FCC. No entanto, não existe uma padronização em relação ao tempo necessário de dieta para tais protocolos experimentais. A ingestão da ração pelos ratos inicia-se logo após o desmame, e não há diferenças na composição das mesmas em relação à idade dos animais, isso poderia, em parte, provocar mecanismos adaptativos aos nutrientes desta ração e, assim, ser necessário um tempo de adaptação à inserção de novos ingredientes da dieta hipercalórica (MARQUES et al.,2015).

Relacionado aos níveis de HDL-c, assim como no presente estudo, no trabalho de Salerno (2014), realizado com ratos Wistar machos, não foi observada diferença significativa entre os grupos (método enzimático-colorimétrico – Kits Bioclin®), no entanto, isso pode ser explicado devido ao tempo inferior de administração da dieta de cafeteria (5 semanas) utilizado no referido estudo.

Os níveis de colesterol e triglicéridos não foram observadas diferenças significativas para os machos. Moraes (2008) relatou que o consumo de dieta de cafeteria, durante 8 semanas, provocou aumento acentuado de, aproximadamente, 138% da concentração de TG (método enzimático-colorimétrico – Kits Laborlab) em ratos Wistar machos estudados em sua pesquisa. Em contrapartida, o estudo de Marques (2015) exibiu que a administração de dieta de cafeteria em ratos Wistar machos, durante um período de 30 e 60 dias, não foi capaz de causar aumento nos níveis de TG (método enzimático-colorimétrico – Gold Analisa®), provavelmente, devido à necessidade de um maior período de adaptação metabólica à dieta, assim como nosso estudo em discussão.

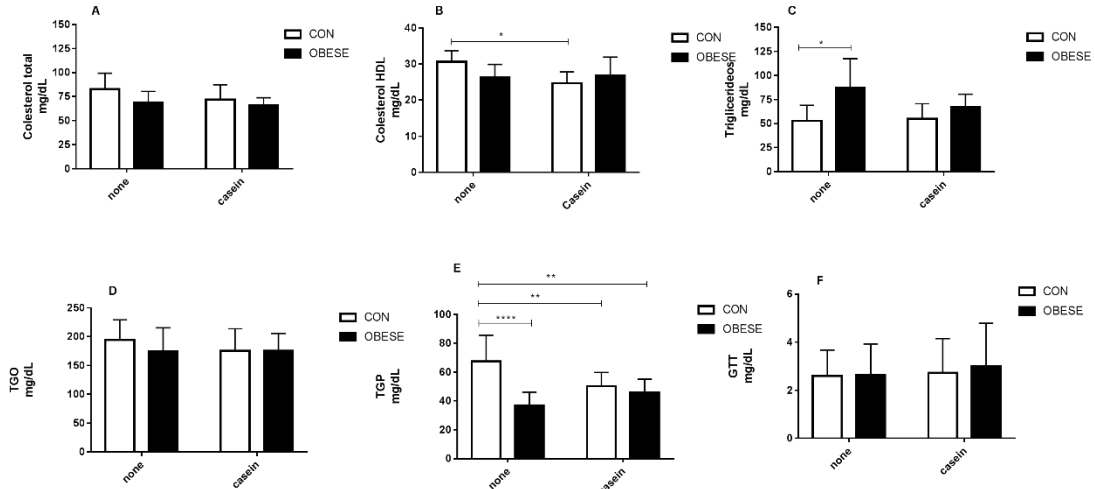
A utilização de dietas hiperlipídicas, hipercalóricas ou hiperglicídicas tem sido amplamente utilizada como modelo de indução de obesidade em modelos experimentais, sendo extremamente útil nas pesquisas com obesidade devido à sua grande semelhança com a geração e com as respostas metabólicas resultantes da obesidade em humanos. A obesidade é decorrente de um balanço energético positivo gerado por fatores ambientais, como por exemplo, o consumo excessivo de alimentos altamente calóricos e o sedentarismo (ROSINI, 2012).

As dislipidemias e a hiperglicemia, causadas pela obesidade e pela inatividade física, estão fortemente associadas com o risco de maior probabilidade para desenvolver doenças cardiovasculares, sendo que as gorduras viscerais estão associadas com efeitos negativos à saúde, independentemente da quantidade de gordura corporal, isto é, mesmo o indivíduo apresentando um Índice de Massa Corporal (IMC) normal, ainda há riscos de arteriosclerose (ANJANA et al., 2004; CASTRO et al., 2004; COSTA et al., 2007).

Verificou-se em outros estudos, os quais determinaram valores de normalidade para os parâmetros bioquímicos dos seus próprios biotérios, os valores obtidos no estudo em questão estão entre os valores normais. Observa-se esta confrontação nos valores estabelecidos por Canadian Council on Animal Care (1993), Centro de Bioterismo da FMUSP (2008), Dantas et al. (2006), Guimarães e Mazáro (2004), Harkness e Vagner (1993) e de Santos et al. (2010). Barter et al. (2006) diz que mesmo não tendo diferença entre o grupo dieta e o controle, o risco de doença aterosclerótica aparenta estar mais ligado com as partículas aterogênicas circulantes e não obrigatoriamente com a concentração de COL contida nas frações lipoproteicas. Reafirmando esse resultado, Zanchet et al. (2012) realizou um estudo com o objetivo de comparar os efeitos entre diferentes dietas e seus modos de fornecimento com relação aos parâmetros bioquímicos onde também apresentou resultados não esperados, em que o grupo controle apresentou alterações em parâmetros bioquímicos não mostrados no grupo exposto a dieta. Os parâmetros não significativos podem ser devido ao curto período da dieta ou devido às respostas diferentes entre os metabolismos dos animais, já que mesmo realizando experimentos em condições laboratoriais e com animais da mesma linhagem, ainda assim podem apresentar respostas diferentes.

No estudo de Borba et al. (2011), os níveis de colesterol total se mostraram aumentados no grupo-experimental, porém não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados ao controle, sugerindo que o nível desse metabólito não responde sempre com acréscimo em resposta ao aumento no teor lipídico do alimento. Os dados deste estudo sugerem que a caseína não apresentou um efeito hipocolesterolemia em ratos, apesar de essa tendência ter sido observada. Acredita-se que esse efeito possa interagir e ser regulado por fatores como a idade dos animais, o colesterol e a quantidade de proteína da dieta (BORBA et al., 2011).

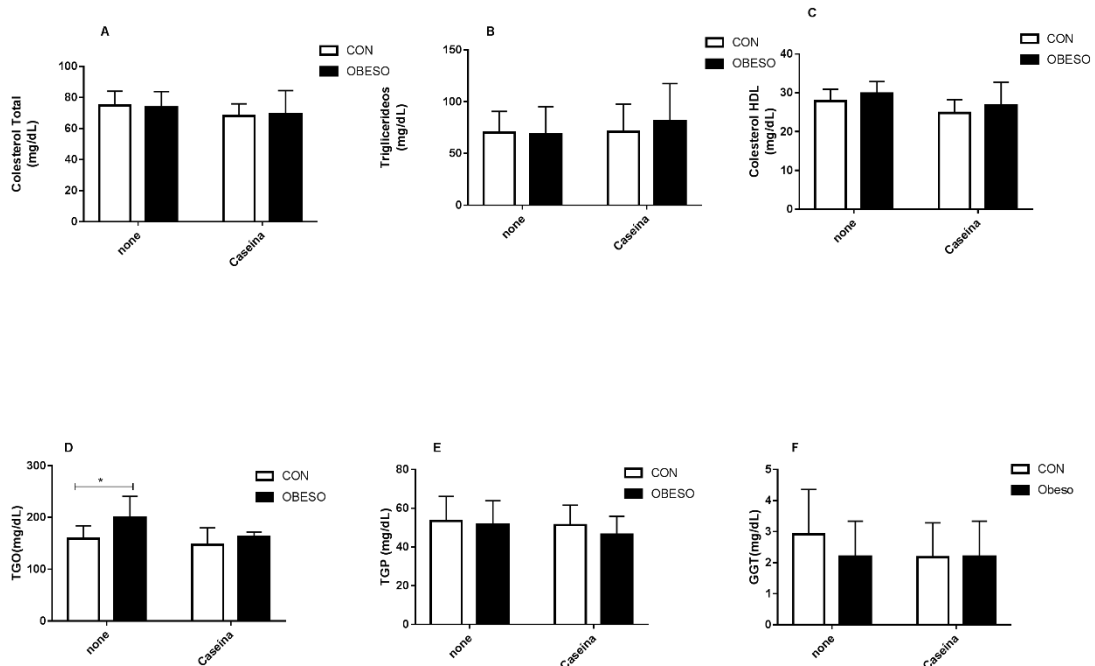
Figura 18: Efeito da suplementação com caseína no perfil metabólico de ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média ± DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças de $p < 0,05$ entre os grupos. A: Colesterol total; B: Colesterol HDL; C: Triglicéridos; D: TGO; E: TGP e F: GTT. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$.

Figura 19: Efeito da suplementação com caseína micelar no perfil metabólico de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média ± DPM. Os símbolos sobre as barras representam diferenças de $p < 0,05$ entre os grupos. A: Colesterol total; B: Triglicéridos; C: Colesterol HDL; D: TGO; E: TGP e F: GTT. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$.

No presente estudo observou-se que comparando o grupo Dieta de cafeteria (MDC) dos machos com o grupo controle (MC), nos parâmetros hepáticos TGO, TGP, GGT, não se obteve diferença significativa. Os grupos suplementados com caseína mostraram uma redução

na maioria das enzimas hepáticas, apresentando uma significância de $p=0,01$ para a enzima TGP quando comparado o grupo controle das fêmeas (FC) com o grupo controle suplementado (FCC), ou seja, a caseína mostrou um efeito protetor no fígado, impedindo o aumento da enzima TGP de forma significativa.

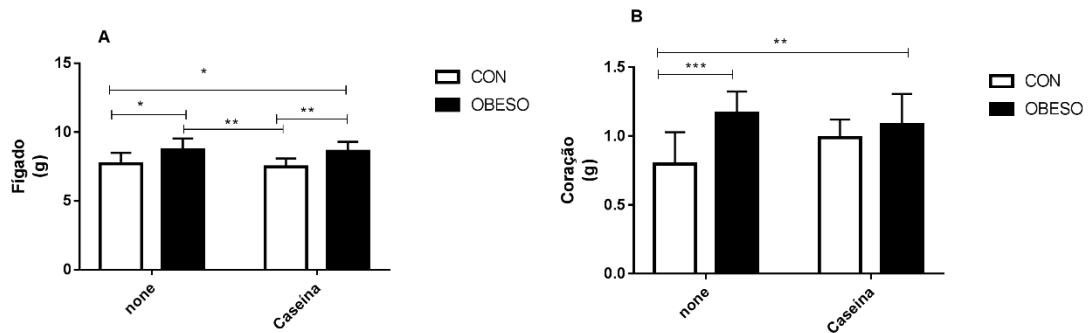
O aumento da atividade enzimática da TGP/ALT e TGO/AST está relacionado com a extensão, e não com a gravidade da lesão, pois estas enzimas estão presentes predominantemente no citoplasma. Dessa forma, mesmo uma lesão que não cause morte celular pode ser suficiente para que ocorra a liberação desta enzima na corrente sanguínea (PEREZ et al., 1997; SHEFFER; GONZÁLEZ, 2006).

Alterações na atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são importantes marcadores de doenças ou lesão tecidual, especificamente no fígado²⁸. Dietas ricas em colesterol promovem um aumento no estresse oxidativo no fígado²⁹, resultando em um aumento na atividade dessas enzimas. Verificou-se que as proteínas do soro, quando adicionadas à dieta rica em colesterol (PSH), impediram o aumento da AST de forma significativa, sugerindo um efeito protetor ao estresse oxidativo provocado pela dieta hipercolesterolemiantes. Esse efeito protetor pode ser corroborado também por ter sido observada uma redução na atividade da fosfatase alcalina nos animais que receberam as proteínas do soro. Assim, os dados deste estudo sugerem que as proteínas do soro apresentaram um efeito protetor para o fígado contra os efeitos deletérios da dieta hipercolesterolemiantes.

5.8 AVALIAÇÃO DOS ÓRGÃOS (FÍGADO E CORAÇÃO) ATRAVÉS DO PESO E HISTOLOGIA

As fêmeas do grupo dieta de cafeteria (FDC) apresentaram diferenças quanto ao peso do fígado e coração em relação as do grupo controle (FC). Os machos apenas mostraram diferença significativa no peso do coração.

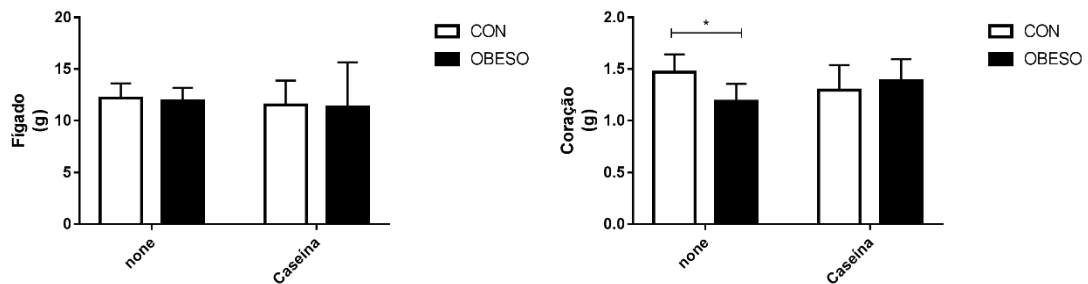
Figura 20: Efeito da suplementação com caseína no peso dos órgãos em ratas fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria



Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças entre os grupos. A: Peso do fígado; B: Peso do coração. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$.

Figura 21: Efeito da suplementação com caseína no peso dos órgãos em ratos machos alimentados com dieta de cafeteria



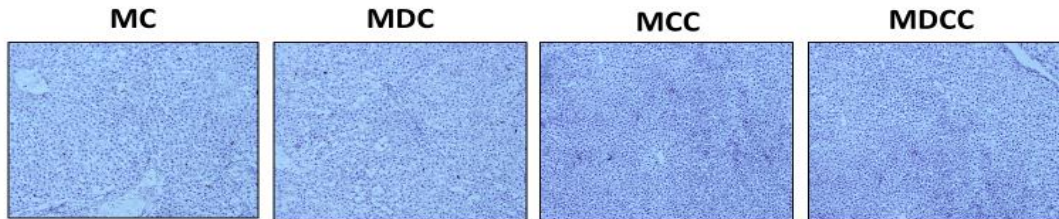
Fonte: O autor

Os dados são a média \pm DPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças entre os grupos. A: Peso do fígado; B: Peso do coração. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e $p < 0,0001$.

As análises histológicas mostram que não há alterações morfológicas marcantes e generalizadas no tecido hepático e na raiz da aorta dos ratos submetidos a uma dieta de cafeteria. A raiz da aorta foi corada com Oil Red O, que serve para corar lipídios, corando-os em vermelho. No entanto vimos nas figuras (22,23,24 e 25) que não houve formação de lesão, nem na dieta de cafeteria nem no grupo controle. O mesmo perfil foi observado no fígado, ou seja, verificamos que neste presente estudo a dieta de cafeteria não foi capaz de gerar um processo aterogênico na aorta e nem esteatose hepática.

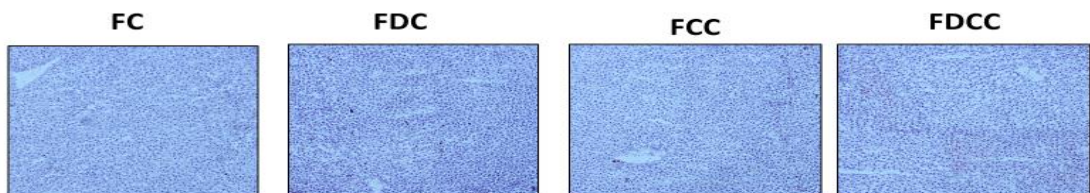
A esteatose hepática é caracterizada por um acúmulo de partículas de lipídeos, fazendo com que o fígado apresente um peso 5% maior que o valor de referência, sendo essa característica uma resultante de uma falha do metabolismo lipídico hepático normal, devido a um defeito dentro do hepatócito ou à oferta de ácidos graxos (AG) ou carboidratos em excesso ao órgão, superando a capacidade de secreção de lipídios da célula (AMARAL, 2012). No entanto, o tempo de 9 semanas de ingestão de dieta de cafeteria não foi suficiente para o desenvolvimento de esteatose hepática.

Figura 22. Efeito da suplementação com caseína em fígados de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria. Coloração representativa com Oil Red O contracorado com hematoxilina.



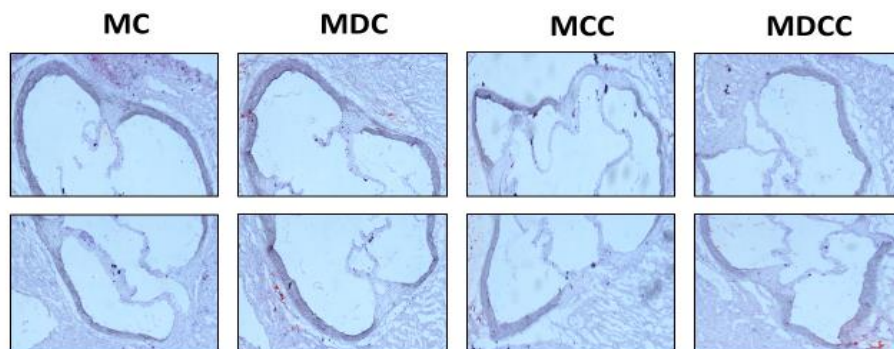
Fonte: O autor

Figura 23. Efeito da suplementação com caseína em fígados de ratos fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria. Coloração representativa com Oil Red O contracorado com hematoxilina.



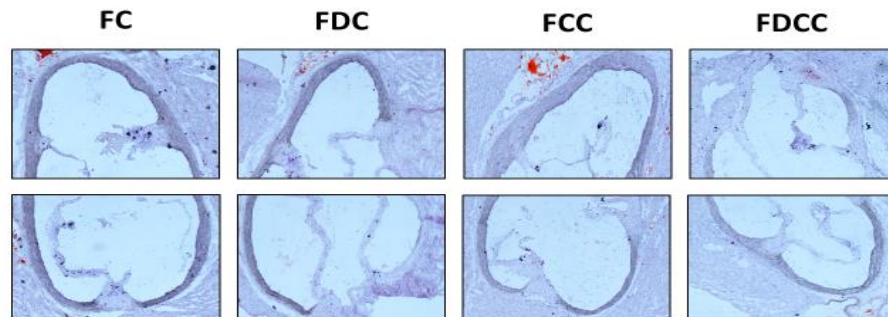
Fonte: O autor

Figura 24. Efeito da suplementação com caseína da raiz da aorta de ratos machos alimentados com dieta de cafeteria. Coloração representativa com Oil Red O contracorado com hematoxilina.



Fonte: O autor

Figura 25. Efeito da suplementação com caseína da raiz da aorta de ratos fêmeas alimentadas com dieta de cafeteria. Coloração representativa com Oil Red O contracorado com hematoxilina.



Fonte: O autor

Os parâmetros não significativos podem ser devido ao curto período da dieta ou devido às respostas diferentes entre os metabolismos dos animais, já que mesmo realizando experimentos em condições laboratoriais e com animais da mesma linhagem, ainda assim podem apresentar respostas diferentes.

No entanto, um número considerável de estudos nos últimos 15 anos demonstrou um forte 'paradoxo da obesidade'. Esse paradoxo sugere que, apesar dos efeitos adversos que a obesidade tem sobre os fatores de risco associados a doenças cardiovasculares e muitas outras doenças crônicas, os pacientes com doenças cardiovasculares e sobrepeso ou obesidade geralmente têm um prognóstico melhor do que os pacientes magros (baixo peso e também os pacientes com 'IMC normal) com diagnósticos semelhantes (LAVIE et al., 2009; LAVIE et al., 2013; LAVIE et al., 2014).

6. CONCLUSÕES

Ficou comprovada a eficiência da dieta de cafeteria na indução a obesidade. Ao induzir dietas em animais, estes apresentam respostas relacionadas com a composição e ingestão da dieta, como também através do seu metabolismo, respondendo de formas distintas dependendo do tempo de indução da dieta realizada.

A caseína em animais exerceu efeito estatisticamente significativo sobre o ganho de peso, índice de adiposidade e quantidade de tecido adiposo, na enzima TGP e no teste de tolerância a glicose. Portanto, estudos adicionais devem ser realizados em um maior período para verificação de sua possível ação no aumento da saciedade, controle da massa corporal e de taxas metabólicas e, assim, podendo servir como recurso nutricional importante para o tratamento e prevenção de doenças metabólicas.

REFERÊNCIAS

- ABELLA, V. et al. Progranulin como um biomarcador e potencial agente terapêutico. **Drug Discov Today.**, v.22, p.1557-1564, 2017a.
- ABELLA, V. et al. Leptina na interação de inflamação, metabolismo e distúrbios do sistema imunológico. **Nat Rev Rheumatol.**, v.13, p.100-109, 2017b.
- ABESO – Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade.** 2016.
- AHIMA, R. S.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab**, v.11, p.327-331, 2000.
- AKHAVAN, T. et al. Effect of premeal consumption of whey protein and its hydrolysate on food intake and postmeal glycemia and insulin responses in young adults. **Am J Clin Nutr.**, v.91, p.966–975, 2010.
- ALBERTI, K.G.; ZIMMET, P.Z. Definição, diagnóstico e classificação do diabetes mellitus e suas complicações. Parte 1: diagnóstico e classificação do relatório provisório de diabetes mellitus de uma consulta da OMS. **Diabet Med.**, v.15, p.539-53, 1998.
- ALMEIDA, M. A. et al. Enhanced gastric tolerability and improved anti-obesity effect of capsaicinoids-loaded PCL microparticles. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, v. 40, p. 345-356, 2014.
- AMARAL, M. M. L. S. do. **Perfil em ácidos graxos do fígado e sua relação com a esteatose hepática e o perfil lipídico sérico de ratos submetidos a diferentes dietas padrão.** Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Faculdade de Nutrição, Programa de Pós Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2012.
- American Diabetes Association. Diagnóstico e classificação do diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v.37 (Suplemento 1), p.81-90, 2014.
- ÂNGULO, P. Mortalidade a longo prazo na doença hepática gordurosa não alcoólica: a histologia hepática tem algum significado prognóstico? **Hepatologia**, v.51, p.373-375, 2010.
- ANJANA M., SANDEEP S., DEEPA R. et al. Visceral and central abdominal fat and anthropometry in relation to diabetes in Asian Indians. **Diabetes Care**, v. 27, n. 12, 2004.
- ARCIERO, P.J. et al. Aumento da ingestão de proteínas e frequência de refeições reduz a gordura abdominal durante o balanço de energia e déficit de energia. **Obesidade**, v.21, p.1357-1366, 2013.
- ASCHA, M.S. et al. Incidência e fatores de risco do carcinoma hepatocelular em pacientes com esteato-hepatite não-alcoólica. **Hepatologia**, v.51, p.1972-1978, 2010.
- Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL) Associação Europeia para o Estudo da Diabetes (EASD); Associação Europeia para o Estudo da Obesidade (EASO). EASL-EASD-

EASO Diretrizes de Prática Clínica para o manejo da doença hepática gordurosa não alcoólica. **J Hepatol.**, v.64, p.1388–1402, 2016.

ASTRUP, A. O poder saciante das proteínas - uma chave para a prevenção da obesidade? **J. Clin. Nutr.**, v.82, p.1–2, 2005.

BAGLIERI, A. et al. Frações de proteína do leite moderadamente prolongam a duração de saciedade em comparação com carboidratos independentemente de sua cinética digestiva em indivíduos com sobrepeso. **Fr. J. Nutr.**, v.112, p.557-564, 2014.

BAMBA, V. Atualização sobre triagem, etiologia e tratamento da dislipidemia em crianças. **JCEM**, v.99, p.3093-3102, 2014.

BARTER, P. J.; BALLANTYNE, C. M.; CARMENA, R.; CABEZAZ, M. C.; CHAPMAN, M. J.; COUTURE, P.; GRAAF, J.; DURRINGTON, P. N.; FAERGEMAN, O.; FROHLICH, J. et al. Apo B versus cholesterol in estimating cardiovascular risk and in guiding therapy: report of the thirty – person / ten – country panel. **Journal Internal of Medicine.** v. 259, n.3, p. 247-258, 2006.

BATISTA, F.M.; BATISTA, L.V. Transição alimentar/nutricional ou mutação antropológica? **Cienc. Cult.**, São Paulo, v.62, nº 4, 2010.

BAYRAM, F. et al. Prevalência de dislipidemia e fatores de risco associados em adultos turcos. **J Clin Lipidol.**, v.8 (2), p.206-216, 2014.

BERNARDIS, L.L.; PATTERSON, B.D. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **J Endocrinol**, v.40, p.527–8, 1968.

BERNARDO, A. F. **Função Mitocondrial cardíaca de camundongos filhotes e adultos submetidos à hiperalimentação durante a lactação.** 2015. 141f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

BIJL E. et al. A fosforilação da α S1-caseína é regulada por genes diferentes. **J Dairy Sci.**, v.97 (11), p.7240-6, 2014.

BIJL, E. et al. Fatores que influenciam o tamanho da micela de caseína no leite de vacas individuais: variantes genéticas e glicosilação da κ -caseína. **J. Dairy int.**, v.34, p.135–141, 2014.

BISCHOFF, S. C. et al. Towards a multidisciplinary approach to understand and manage obesity and related diseases. **Clinical nutrition**, v.36, n.4, p.917-938, 2017.

BLACHIER, M. et al. O fardo da doença hepática na Europa: Uma revisão dos dados epidemiológicos disponíveis. **J. Hepatol.**, v.58, p.593-608, 2013.

BLUMENKRANTZ, M. Obesity: the world's metabolic disorder. **Beverly Hills**, 1997.

BLUNDELL, J.E.; GILLET A. Control of food intake in the obese. **Obes Res.**, v.9(4), p.263S-70S, 2001.

BOIRIE Y. et al. Proteínas dietéticas lentas e rápidas modulam diferentemente o acúmulo de proteína pós-prandial. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, EUA, v.94, p.14930-14935, 1997.

BORBA, A. J.; et al. Dieta hiperlipídico-proteica utilizada para emagrecimento induz obesidade em ratos. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.24, n. 4, p. 519-528, Aug., 2011.

BOWEN, J.; NOAKES, M.; CLIFTON, P.M. Appetite regulatory hormone responses to various dietary proteins differ by body mass index status despite similar reductions in ad libitum energy intake. **J Clin Endocrinol Metab.**, v.91(8), p.2913-9, 2006.

BOZZETTO L. et al. A resistência à insulina, o GLP-1 pós-prandial e a imunidade adaptativa são os principais preditores da DHGNA em uma população homogênea com alto risco cardiovascular. **Nutr. Metab. Cardiovasc.**, v.26, p.623-629, 2016.

BRAHMANAIDU, P. et al. Mitigating efficacy of piperine in the physiological derangements of high fat diet induced obesity in Sprague Dawley rats. **Chemico-biological interactions**, v. 221, p. 42-51, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Portaria nº 710, de 10 de junho de 1999. **Diário Oficial da União**, 11 jun 1999.

BRENNAN, I. M. et al. 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. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.**, v.303, p.G129–G140, 2012.

BRIDGET, A. H.; NAIMAN, A.; KHAN, M.T.G. Nutrigenetic Contributions to Dyslipidemia: A Focus on Physiologically Relevant Pathways of Lipid and Lipoprotein Metabolism. **Nutrients**. Oct, 2018.

BUZZETTI, E.; PINZANI, M.; TSOCHATZIS, E.A. A patogênese de múltiplos hits da doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD). **J. Metabolismo**, v.65, p.1038-1048, 2016.

BYRNE, C. D. et al. Metabolic disturbances in non-alcoholic fatty liver disease. **Clinical Science**, v. 116, p. 539-564, 2009.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. **Guide to the care and use of experimental animals**. v. 1, 2a Ed. 1993. 298p.

CANÇÃO Y. et al. Químicos que destroem endócrinos, risco de diabetes tipo 2 e características metabólicas relacionadas ao diabetes: Uma revisão sistemática e meta-análise. **J. Diabetes**, v.8, p.516-532, 2016.

CAROLI, A.M.; CHESSA, S.; ERHARDT, G.J. Revisão convidada: polimorfismos da proteína do leite em bovinos: efeito no melhoramento genético e na nutrição humana. **J Dairy Sci.**, v.92 (11), p.5335-52, 2009.

CARROL, K.K. Soya protein and atherosclerosis, **JAOCS**, v.2, p.416-19, 1981.

CARVALHEIRA, J.B.C.; SAAD, M.J.A. Doenças associadas à resistência à insulina/hiperinsulinemia, não incluídas na síndrome metabólica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.50, n.2, p. 360-367, 2006.

CASABIELL, X.; PIÑEIRO, V.; VEGA, F.; DE LA CRUZ, L. F.; DIÉGUEZ, C.; CASANUEVA, F. F. Leptin, reproduction and sex steroids. **Pituitary**, v.4, n.1-2, p.9399, 2001.

CASTELLANO, M.; BÖHM, M. The cardiac b-adrenoceptor-mediated signaling pathway and its alterations in hypertensive heart disease. **Hypertension**, v.29, p.715-722, 1997.

CASTRO, L.C.V. et al. Nutrição e doenças cardiovasculares: os marcadores de risco em adultos. **Rev Nutr.**, v. 17, n. 3, 2004.

CENTRO DE BIOTERISMO DA FMUSP. Parâmetros bioquímicos de ratos do centro de bioterismo da FMUSP, 2008. Disponível em: http://www.biot.fm.usp.br/index.php?mpg=03.00.00&tip=RATO&id_ani=17¶metros=sim. Acessado em 10/01/2020.

CHALASANI, N. et al. O diagnóstico e manejo da doença hepática gordurosa não alcoólica: Orientação prática da Associação Americana para o Estudo das Doenças Hepáticas. **Hepatologia**, v.67, p.328-357, 2018.

CHALASANI, N. et al. O diagnóstico e manejo da doença hepática gordurosa não alcoólica: Diretrizes da Associação Americana para o Estudo das Doenças Hepáticas, do Colégio Americano de Gastroenterologia e da Associação Americana de Gastroenterologia. **Hepatologia**, v.55, p.2005–2023, 2012.

CHANDRA, K. S. et al. Consensus statement on management of dyslipidemia in Indian subjects, **Indian Heart J.**, v.66(Suppl 3), p.S1–S51, Dec 2014.

CLAUSEN, M.R. et al. A ingestão de caseína hidrolisada está associada à redução da acreeção da gordura corporal e ao aumento do metabolismo da fase II em camundongos C57BL / 6J propensos à obesidade. **PloS um**, v.10 (3), 2015.

COHN, J.N.; FERRARRI, R.; SHARPE, N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. **JAm Coll Cardiol.**, v.35, p.562-82, 2000.

CONDE, J. et al. Adipocinas: novos jogadores em doenças reumáticas. **Discov Med.**, v15, p.73–83, 2013b.

CONDE, J. et al. Expansão da rede de adipocinas na cartilagem: identificação e regulação de novos fatores em condrócitos humanos e murinos. **Ann Rheum Dis.**, v.70, p.551-559, 2011.

CONDE, J. et al. Expressão diferencial de adipocinas na gordura infrapatelar (IPFP) e sinovial de pacientes com osteoartrite e indivíduos saudáveis. **Ann Rheum Dis.**, v.73. p.631, 2013a.

CONLIN, P.R. et al. O efeito dos padrões alimentares no controle da pressão arterial em pacientes hipertensos: resultados do estudo Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH). **World J Hipertens.**, v.13, p.949-955, 2000.

COSTA, C.A.S. et al. Tomografia computadorizada na avaliação da distribuição do tecido adiposo abdominal de ratos alimentados com rações hiperlipídicas após desnutrição Neonatal. **Radiol Bras.**, v. 40, n. 5, p. 337-340, 2007.

D'AIUTO, F. et al. Resumo das evidências: a relação entre doenças bucais e diabetes. **Br Dent J.**, v.222, p.944-8, 2017.

DALGLEISH, D. G. On the structural models of bovine casein micelles – Review and possible improvements. **Soft Matter**, v. 7, p. 2265–2272, 2011.

DANAEI, G. et al. Tendências nacionais, regionais e globais na prevalência de glicose e diabetes plasmática em jejum desde 1980: análise sistemática de pesquisas de exames de saúde e estudos epidemiológicos com 370 anos-país e 2,7 milhões de participantes. **Lanceta**, v.378, p.31-40, 2011.

DANGIN, M. et al. A taxa de digestão da proteína é um fator regulador independente da retenção de proteína pós-prandial. **J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.280, p.340-348, 2001.

DANTAS, J.A.; AMBIEL, C.R.; CUMAN, R.K.N.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, C.A. DEMONTE, A. **Carboidratos. In: OLIVEIRA, J. E. D; Ciências Nutricionais. Aprendendo a Aprender. 2ª Ed, São Paulo: Sarvier, p.93-105, 2008.**

DE KRUIF, C.G.; GRINBERG, V.Y. Micellisation of β -casein. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 210, p. 183-190, 2002.

DE SOUZA, C.T. et al. Consumption of a fat: rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. **Endocrinology**, v.146(10), p.4192-9, 2005.

DE SOUZA, C.V.; GUPTA, N.; PATEL, A. Efeitos cardiometabólicos de uma nova classe de agentes antidiabéticos. **Clin. Ther.**, v.37, p.1178 a 1194, 2015.

DEFRONZO, R.A.; FERRANNINI, E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. **Diabetes Care**, New York, v.14, n.3, p.173-194, 1991.

DELLA PEPA, G. et al. Isocaloric Dietary Changes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in High Cardiometabolic Risk Individuals. **Nutrients**, v.26; p.9(10):1065, Sep 2017.

DEMLING, R. H., & DeSANTI, L. Effect of a Hypocaloric Diet, Increased Protein Intake and Resistance Training on Lean Mass Gains and Fat Mass Loss in Overweight Police Officers. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.44(1), p,21–29, 2000.

DIDEK, D. et al. Association Between Exercise and Treatment with Liraglutide in Obese Rats by Cafeteria Diet. **Braz. arch. biol. technol.**, Curitiba, v.62, e19180563, 2019.

DONGIOVANNI, P.; VALENTI, L. A Abordagem nutrigenômica da doença hepática gordurosa não alcoólica. **Int. J. Mol. Sci.**, v.18, p.1534, 2017.

DUPREZ, D.; TOLEUOVA, A. Pré-hipertensão e síndrome cardiometabólica: consequências patológicas e clínicas. **Especialista Rev. Cardiovasc. Ther.**, v.11, p.1725-1733, 2013.

EFFTING, P.S. et al. Resistance Exercise Modulates Oxidative Stress Parameters and TNF- α Content in the Heart of Mice with Diet-Induced Obesity. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, 2019.

ENES, C.C.; SILVA, J.R. Associação entre excesso de peso e alterações lipídicas em adolescentes. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 12, p. 4055-4063, dez. 2018.

ESTEVES, E.A.; ÁVILA, M.V.P.; ALMEIDA, F.Z. Ingestão calórica e relações entre ingestão proteica e variáveis de adiposidade em mulheres adultas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.21, n.4, p.587-593, out/dez 2010.

ESTIMATIVAS Globais de Saúde 2015: Mortes por Causa Idade Sexo por País e por Região 2000-2015. Ano: 2016. Disponível online em: http://www.who.int/entity/healthinfo/global_burden_disease/GHE2015_Deaths_Global_2000_2015.xls, acesso em: 25 maio 2019.

FANI, M. **Propriedades nutricionais das proteínas do soro do leite**. Aditivos Ingredientes. Editora Insumos: São Paulo, abr. 2014. n° 107. p. 28-39.

FARRELL, H.M. Jr. et al. Nomenclatura das proteínas do leite de vaca - sexta revisão. **J Dairy Sci.**, v.87 (6): p.1641-74, 2004.

FARRELL, H.M. Jr. Nomenclatura, estrutura e associação de caseína Em: FUQUAY J.W., FOX P.F., Mc SWEENEY P.L.H., editores. **A Enciclopédia das Ciências do Leite**. 2° ed. Academic Press; 2011; pp 765-771.

Federação Internacional de Diabetes. **Atlas do diabetes do IDF**. 8th ed. Brussels, Belgium: Federação Internacional de Diabetes; 2017.

FERREIRA, A.P.S. de; SZWARCOWALD, C.L.; DAMACENA, G.N. Prevalência e fatores associados da obesidade na população brasileira: estudo com dados aferidos da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Rev. bras. epidemiol.**, São Paulo, v. 22, 2019.

FIGUEROA, A. et al. Efeitos das proteínas do leite e treinamento físico combinado na hemodinâmica da aorta e rigidez arterial em mulheres jovens obesas com pressão arterial elevada. **World. J. Hipertens.**, v.27, p.338-344, 2014.

FITZGERALD, R.J.; MURRAY, B.A.; WALSH, D.J. Peptídeos hipotensores de proteínas do leite. **J Nutr.**, v.134, p.980S - 988S, 2004.

FORBES, J.M.; COOPER, M.E. Mecanismos de complicações diabéticas. **Physiol Rev.**, v.93, p.137-88, 2013.

FOWLER, M.J. Complicações microvasculares e macrovasculares do diabetes. **Clin Diabetes**, v.26, p.77-82, 2008.

FOX, C. S. et al. "Update on Prevention of Cardiovascular Disease in Adults With Type 2 Diabetes Mellitus in Light of Recent Evidence: A Scientific Statement From the American Heart Association and the American Diabetes Association". **Diabetes care**, vol.38,9, p.1777-803, 2015.

FOX, P. F.; BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. **International Dairy Journal**, Canadá, v. 18, p. 677-684, 2008.

FOX, P.F. Leite bovino Em: FUQUAY, J.W.; FOX, P.F.; Mc SWEENEY, P.L.H., editors. **A Enciclopédia das Ciências do Leite**. 2º ed. Academic Press; 2011; pp 478-483.

FRANCISCHI, R.P.P. et al. Obesidade: Atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Rev. Nutr. Campinas**, v.13(1), p.17-28, jan./abr., 2000.

FRANCQUE, S.M.; VAN DER GRAAFF, D.; KWANTEN, W.J. Doença hepática gordurosa não alcoólica e risco cardiovascular: mecanismos fisiopatológicos e implicações. **J. Hepatol.**, v.65, p.425-443, 2016.

FUKUSHIMA, D. Soy Proteins. In: YADA, R.Y. (ed.). **Proteins in Food Processing**. Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2004, pp. 100-122.

GALKINA, E.; LEY, K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. **Annu Rev Immunol.**, v.27, p.165-97, 2009.

GAO, W.G. et al. Um escore de risco chinês simples para diabetes não diagnosticado. **Diabet Med.**, v.27, p.274-281, 2010.

GINSBERG, H. Estatinas na doença cardiometabólica: o que torna a pitavastatina diferente? **Cardiovasc. Diabetol.**, v.12 (Suplemento 1), p.S1.10.1186/1475-2840, 2013.

GOFF, D.C. Jr. et al. Prevalência de dislipidemia, tratamento e controle no Estudo Multiétnico de Aterosclerose (MESA): gênero, etnia e cálcio nas artérias coronárias. **Circulação**, v.113 (5), p.647-656, 2006.

GOFF, H. D. University of Guelph. **Dairy Science and Technology**. 2009. Disponível em:<https://www.uoguelph.ca/foodscience/dairy-science-and-technology/dairychemistry-and-physics>, acesso em: 12 jun. 2019.

GOLDBERG, I.J.; GINSBERG, H.N. Ins and outs modulating hepatic triglyceride and development of nonalcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, v.130(4), p.1343-46, 2006.

GREEN, E.D. et al. O gene da obesidade humana (OB): padrão de expressão de RNA e mapeamento nos mapas físico, citogenético e genético do cromossomo 7. **Genoma Res** v.5, p.5-12, 1995.

GROEN, B.B. et al. A administração de proteína intragástrica estimula a síntese proteica muscular durante a noite em homens idosos. **J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.302, p.52-60, 2012.

GRUNDY, S.M. et al. Diagnóstico e manejo da síndrome metabólica: Declaração Científica do American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute. **Circulação**, v.112, p.2735-2752, 2005.

GUIMARÃES, M. A.; MAZÁRO, R. Princípios éticos e Práticos do uso de Animais de Experimentação. São Paulo: UNIFESP; 2004.

HAN, R. et al. A apolipoproteína A - I estimula a proteína quinase ativada por AMP e melhora o metabolismo da glicose. **Diabetologia**, v.50, p.1960-1968, 2007.

HARAGUCHI, F. K. et al. Influência das proteínas do soro sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea de ratos hipercolesterolêmicos. **Revista de Nutrição**, v. 22, p. 515-525, 2009.

HARKNESS, J. E.; WAGNER, J. E. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. 3 ed. São Paulo. Roca. 1993.

HARKNESS, J.E. & WAGNER, J.E. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. 3ªed, Editora Roca, São Paulo, 1993.

HEALY, N. P. et al., A casein hydrolysate protects mice against high fat diet induced hyperglycemia by attenuating NLRP3 inflammasome-mediated inflammation and improving insulin signaling, **Mol. Nutr. Food Res.**, v.60, p.2421–2432, 2016.

HEINZ, H. J. **The Heinz Handbook of Nutrition**. Blakiston Division. 2ª ed., 1965.

HERNANDEZ, G.E.A.V.; FRIEDMAN, S. L. Pathogenesis of Liver Fibrosis. **Annual Review of Pathology Mechanisms of Disease**, Palo Alto, v. 6, p. 425–56, 2011.

HEYNE, A. et al. Research Focus on Compulsive Behaviour in Animals: An animal model of compulsive food-taking behaviour. **Addiction Biology**, v. 14, n. 4, p. 373-383, 2009.

HOLT, C. et al. Substructure of bovine casein micelles by small-angle X-ray and neutron scattering. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 213, p. 275–284, 2003.

HORNE, D. S. Casein micelle structure: models and muddles. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.11, p.148–153, 2006.

HUNTER, D.J.; REDDY, K.S. Doenças não transmissíveis. **N Engl J Med.**, v.369, p.1336-1343, 2013.

JAKUBOWICZ, D.; FROY, O. Biochemical and metabolic mechanisms by which dietary whey protein may combat obesity and Type 2 diabetes. **J Nutr Biochem**, v.24(1), p.1-5, 2013.

JANUS, E.D. et al. Dislipidemia na Austrália rural: prevalência, conscientização e adesão às diretrizes de tratamento na Grande Estudo do Fator de Risco do Triângulo Verde. **Med J Aust.**, v.192(3), p.127-132, 2010.

JU CUI, et al. Adipose-specific deletion of Kif5b exacerbates obesity and insulin resistance in a mouse model of diet-induced obesity. **The FASEB Journal article fj.**, February v.27, 2017.

KARAKI, H. et al. Efeito anti-hipertensivo do hidrolisado trípico da caseína do leite em ratos espontaneamente hipertensos. **Comp Biochem Physiol C.**, v.96, p.367-371, 1990.

KINSEY, A.W. et al. Influência da ingestão noturna de proteínas e hidratos de carbono no apetite e risco cardiometabólico em mulheres com excesso de peso e obesas sedentárias. **Fr. J. Nutr.**, v112, p.320-327, 2014.

KLAUS S. Increasing the protein: carbohydrate ratio in a high-fat diet delays the development of adiposity and improves glucose homeostasis in mice. **J Nutr.** v.35(8), p.854-8, 2005.

KLEINER, D.E. et al. Desenho e validação de um sistema de escore histológico para doença hepática gordurosa não alcoólica. **Hepatologia**, v.41, p.1313–1321, 2005.

LAMBA, I.B. et al. A relação entre saúde bucal e diabetes mellitus. **J Am Dent Assoc.**, v.139, p.19-24S, 10, 2008.

LAMBERS, T.T. et al. Análises de agrupamento em peptidômica revelaram que os perfis de peptídeos das fórmulas infantis são descritivos. **Ciência e nutrição alimentar**, v.3 (1), p.81-90, 2015.

LAVIE, C. J. et al. Impact of obesity and the obesity paradox on prevalence and prognosis in heart failure. **JACC Heart Fail.** v1, p.93–102, 2013.

LAVIE, C. J.; McAULEY, P. A.; CHURCH, T. S.; MILANI, R. V. & BLAIR, S. N. Obesity and cardiovascular diseases: implications regarding fitness, fatness and severity in the obesity paradox. **J. Am. Coll. Cardiol.** V.63, p.1345–1354, 2014.

LAVIE, C. J.; MILANI, R. V. & VENTURA, H. O. Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact of weight loss. **J. Am. Coll. Cardiol.** v.53, p.1925–1932, 2009.

LEÃO, R.L.C. **Avaliação do potencial terapêutico de inibidores da Galectina-3 em modelo experimental de lesão hepática crônica.** Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Centro de Pesquisas Ageu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2015.

LEONI, S. et al. Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis. **World J Gastroenterol.**, v.14; 24(30), p.3361-3373, Aug 2018.

LI, J. et al. Plasma tyrosine and its interaction with low high-density lipoprotein cholesterol and the risk of type 2 diabetes mellitus in Chinese. **J Diabetes Investig.**, v.10(2), p.491-498, Mar 2019.

LILLEFOSSE, H.H. et al. Caseína hidrolisada reduz a obesidade induzida por dieta em camundongos C57BL / 6J machos. **O jornal de nutrição**, v.143 (9),p.1367-75, 2013.

LIU, M.; LIU, F. Regulation of adiponectin multimerization, signaling and function. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.**, v.28, p.25–31, 2014.

LIU, Y. et al. Inhibitory effect of blueberry polyphenolic compounds on oleic acid-induced hepatic steatosis in vitro. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, p. 12254-12263, 2011.

LÓPEZ-SUÁREZ, A. et al. A doença hepática gordurosa não-alcoólica está associada com a pressão arterial em indivíduos hipertensos e não hipertensos a partir da população geral com níveis normais de alanina aminotransferase. **EUR. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v.23, p.1011-1017, 2011.

LORENZEN, J. et al. O efeito das proteínas do leite na regulação do apetite e termogênese induzida pela dieta. **EUR. J. Clin. Nutr.**, 66:622-627, 2012.

LOUZADA, S.M. et al. Efeito da obesidade induzida pela dieta da cafeteria sobre os parâmetros oxidativos no ovário de ratas. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 2, n. 2, p. 92-102, 2013.

MACEDO, I. C. et al. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptina levels. **Peptides**. p. 189-196. 2012

MADZIMA, T.A. et al. O consumo noturno de proteínas ou hidratos de carbono resulta num aumento do gasto energético em repouso matinal em homens ativos em idade universitária. **Fr. J. Nutr.**, v.111, p.71-77, 2014.

MANCUSO, P. O papel das adipocinas na inflamação crônica. **Immuno Targets Ther.**, v.5, p.47-56, 2016.

MANGINI, S. et al. Heart transplantation: review. **Einstein** (São Paulo), v.13(2), p.310-8, 2015.

MARQUES, A.C.R. et al. Influência das Dietas Hipercalóricas sobre os Parâmetros de Obesidade, Dislipidemia e Hiperglicemia em Ratos. **Revista Saúde e Pesquisa**, vol. 8 p.55-62, 2015.

MC PHERSON, R. A. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos Laboratoriais de Henry**. 21 ed, Barueri SP, Manole, 2012.

McALLISTER, D.A. et al. "Incidence of Hospitalization for Heart Failure and Case-Fatality Among 3.25 Million People With and Without Diabetes Mellitus." **Circulation**, vol. 138,24, p.2774-2786, 2018.

MEHLEM, A., HAGBERG, C. E., MUHL, L., ERIKSSON, U., & FALKEVALL, A. Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. **Nature Protocols**, v.8(6), p.1149–1154, 2013.

MENDES, F.C.V. et al. Dieta de Cafeteria remodela a estrutura da aorta de ratos obesos. **Rev. Saúde e Biol.**, v.8, nº1, p.85-91, 2013.

MENDES, O.C. et al. Remodelamento cardíaco: análise seriada e índices de detecção precoce dedisfunção ventricular. **Arq Bras Cardiol.**, v.94(1), p.62-70, 2010.

MILLER, M. et al. Triglicerídeos e doenças cardiovasculares: uma declaração científica da American Heart Association. **Circulação**, v.123, p.2292-2333, 2011.

MIOTTO, A.M. **Perfil lipídico e sensibilidade adrenérgica em átrio direito de ratos normo e hipercolesterolêmicos tratados ou não com infuso das cascas de Crotoncajúcara Benth.** Dissertação Mestrado (Ciências Biológicas (Fisiologia) - Universidade Estadual de Campinas, 2001.

MITCHELL, H. S. et al. **Nutrición y Dieta.** Nueva Editorial Interamericana. 16ª edição, 1978.

MIYAMOTO, J. et al. Sinalização nutricional via receptores de ácidos graxos livres. **Int. J. Mol. Sci.**, v.17, p.450, 2016.

MODLER, W. Milk processing. In: NAKAI, S.; MODLER, W. (Ed.). Food proteins: processing applications. **Wiley: VCH**, p.81-88, 2000.

MOLICA, F. et al. Adipocinas na encruzilhada entre obesidade e doença cardiovascular. **Thromb. Haemost.**, v.113, p.553-566, 2015.

MONTEIRO, C. et al. The nutrition transition in Brazil. **European Journal of Clinical Nutrition**, v:49, p 105-113, 1995.

MORAES C., DAVEL A.P., ROSSONI L.V., ANTUNES E., ZANESCO A. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC Physiol**, v.29, n.8, p. 8-12, 2008.

MORAES, C. et al. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC physiology**, v.8, n.1, 2008.

MURRAY, C.J.; LOPEZ, A.D. Mortalidade por causa de oito regiões do mundo: Estudo Global da Carga de Doenças. **Lanceta**, v.349 (9061), p.1269-1276, 1997.

NAKAMURA K., FUSTER J.J., WALSH K. Adipocinas: uma ligação entre obesidade e doença cardiovascular. **J. Cardiol.**, v.63, p.250-259, 2014.

NASCIMENTO A.F., SUGIZAKI M.M., LEOPOLDO A.S., LIMA-LEOPOLDO A.P., LUVIZOTTO R.A., NOGUEIRA C.R., et al. A hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and comorbidities in wistar rats. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v.52, n.6, p 968-74, 2008.

NASCIMENTO, A. F. et al. A hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and comorbidities in wistar rats. **Arq Bras Endocrinol Metab**, vol. 52, n. 6, São Paulo. Aug., 2008.

NASCIMENTO, A. F. **Influência das dietas padrão e hipercalórica sobre o comportamento corporal e bioquímico de ratos wistar.** 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, 2006.

NAUTA, S.T. et al. Mortalidade a curto e longo prazo após infarto do miocárdio em pacientes com e sem diabetes. **Diabetes Care**, v.35, p.2043–2047, 2012.

NAVARRO, G. et al. O papel dos andrógenos no metabolismo, obesidade e diabetes em homens e mulheres. **Obesidade**, v.23, p.713–719, 2015.

NAVIO, J.A. Diabetes e saúde bucal: uma visão geral. **J Am Dent Assoc.**, v.134, p.4–10s, 2003.

NEUSCHWANDER-TETRI, B.A.; CALDWELL, S.H. Esteato-hepatite não alcoólica: Resumo de uma conferência de tópico único da AASLD. **Hepatologia**, v.37, p.1202-1219, 2003.

NG-KWAI-HANG, K.F. Heterogeneidade, fracionamento e isolamento Em: FUQUAY, J.W.; FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. editores. **A Enciclopédia das Ciências do Leite**. 2º ed. Academic Press; 2011; pp 751–764.

ORMSBEE, M.J. et al. A influência da alimentação noturna de carboidratos ou proteínas combinada com treinamento físico sobre o apetite e risco cardiometabólico em mulheres obesas jovens. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.**, v.40, p.37-45, 2015.

ORTIZ, V. et al. Contribuição da obesidade para a progressão da fibrose relacionada à hepatite C. **World J Gastroenterol**, v.97, p.2408–2414, 2002.

PAGE, J. M.; HARRISON, S. A. NASH and HCC. **Clin Liver Dis.**, v. 13, p. 631-647, 2009.

PAIGEN, B., MORROW, A., HOLMES, P. A., MITCHELL, D., & WILLIAMS, R. A. Quantitative assessment of atherosclerotic lesions in mice. **Atherosclerosis**, v.68(3), p.231–240, 1987.

PAN, X.R. et al. Efeitos da dieta e do exercício na prevenção da DMNID em pessoas com tolerância à glicose diminuída. O estudo Da Qing IGT e Diabetes. **Diabetes Care**, v.20, p.537-544, 1997.

PAPADAKI, M. et al. Tissue engineering of functional cardiac muscle: molecular, structural, and electrophysiological studies. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.**, v.280(1), p.H168-78, 2001.

PASTORE, A. P. et al. Efeito da associação entre obesidade neuroendócrina e exócrina experimental sobre a pressão arterial de cauda e o metabolismo de glicose de ratos Wistar. **J Bras Nefrol.**, v. 32, n. 2, p. 195-200, 2010.

PATEL, S.N. et al. Comparação de taurina e pantoyltaurine como antioxidantes in vitro e no sistema nervoso central de ratos diabéticos. **Exp. Toxicol Pathol.**, v.68, p.103–112, 2016.

PENSAMENTOS, B. et al. Proteína Whey estimula o acréscimo de proteína muscular pós-prandial de forma mais eficaz do que a caseína e o hidrolisado de caseína em homens idosos. **J. Clin. Nutr.**, v.93, p.997-1005, 2011.

PEREIRA, L. O. **Protocolo de indução de obesidade em ratas a partir do perfil de ingestão alimentar de mulheres obesas brasileiras.** Campinas, 2002.

PÉREZ-MARTÍNEZ, P. et al. Recomendações de estilo de vida para a prevenção e gestão da síndrome metabólica: uma recomendação internacional do painel. **Nutr. Rev.**, v.75, p.307-326, 2017.

PETERS, S.A.; HUXLEY, R.R.; WOODWARD, M. Diabetes como fator de risco para doença coronariana incidente em mulheres comparados com homens: uma revisão sistemática e meta-análise de 64 coortes incluindo 858.507 indivíduos e 28.203 eventos coronarianos. **Diabetologia**, v.57, p.1542-1551, 2014.

POLYZOS, S.A. et al. O papel emergente dos desreguladores endócrinos na patogênese da resistência à insulina: Um conceito que implica doença hepática gordurosa não alcoólica. **Curr. Mol. Med.**, v.2, p.68-82, 2012.

PRADA, P.O. et al. Western diet modulates insulin signaling, c-Jun N-terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. **Endocrinology**, v.146, n.3, p.1576-87. 2005.

PROLO, P.; WONG, M.; LICINIO, J. Leptin. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v.30, n.12, p.1285-1290, 1998.

PROMINTZER, M.; KREBS, M. Effects of dietary protein on glucose homeostasis. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v.9, p.463-468, 2006.

QUEIROZ, K. B. **Associação entre dieta hipercálica e exercício físico modifica o metabolismo e a expressão gênica no tecido adiposo.** 2010. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2010.

QUEIROZ, T.I.S.M. et al. Diagnóstico Laboratorial do Infarto agudo do Miocárdio: Uma revisão Literária de Atualização. **Revista Saúde em Foco** – Edição nº 10 – Ano: 2018.

RADER, D.J.; HOVING, G.K. HDL e doença cardiovascular. **Lanceta**. 2014.

RAYNARD, B. et al. Fatores de risco de fibrose na doença hepática induzida pelo álcool. **Hepatologia**, v.35, p.635-638, 2002.

Relatório de Status Global da Organização Mundial da Saúde sobre Doenças Não Transmissíveis 2014: **Alcançando as Nove Metas Globais de Doenças Não Transmissíveis;** uma responsabilidade compartilhada, 2014.

Relatório Global sobre Diabetes. Organização Mundial da Saúde (2016). Disponível online em: <http://www.who.int/diabetes/global-report/en/>, acesso em: 22 jun 2019.

RIBEIRO, S. M. L.; SANTOS, Z. A. dos; SILVA, R. J. da; LOUZADA, E.; DONATO JUNIOR, J.; TIRAPÉGUI, J. Leptina: aspectos sobre o balanço energético, exercício físico e amenorréia do esforço. **Arq Bras EndocrinolMetab.**, v.51, n.1, p.1124,2007

RIGANO, D.; SIRIGNANO, C.; TAGLIALATELA, S.O. O potencial dos produtos naturais para atingir PPAR α Acta Pharm. **Pecado. B.**, v.7, p.427-438, 2017.

RODRIGUES, I.C.P. et al. Engenharia de tecidos cardíacos: atual estado da arte a respeito de materiais, células e formação tecidual. **Einstein**, São Paulo, v.16, n.3, eRB4538, 2018.

ROSINI, T. C.; SILVA, A.S.R.; MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 383-387, 2012.

RUPARELIA, N.; CHAI, J.T.; FISHER, E.A.; CHOUDHURY, R.P. Processos inflamatórios na doença cardiovascular: uma rota para terapias direcionadas. **Nat. Rev. Cardiol.**, v.369, p.2437-2445, 2016.

SAKKIAH, S. et al. Endocrine Disrupting Chemicals Mediated through Binding Androgen Receptor Are Associated with Diabetes Mellitus. **Int J Environ Res Public Health.**, v.23, p.15(1):25, Dec 2017.

SALERNO, P.S.V. **Efeito da dieta de cafeteria em ratos submetidos ao estresse crônico variado: análise de parâmetros bioquímicos e comportamentais.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

SANTOS, J.P.S.O. **Dieta de Cafeteria: Produção, Composição Nutricional e Influência na Glicemia de Jejum em Modelo Animal.** 2016. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

SANTOS, M. R. V.; SOUZA, V. H.; MENEZES, I. A. C.; BITENCURT, J. L.; REZENDENETO, J. M.; BARRETO, A. S.; CUNHA, F. A.; MARÇAL, R. M.; SILVA, T. F.; QUÍNTANS-JÚNIOR, L. J. et al. Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) produzidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. **SCIENTIA PLENA**, v. 6, n. 10, p. 01-06, 2010.

SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Cardiômetro: mortes por doenças cardiovasculares no Brasil.** Disponível em: <http://www.cardiometro.com.br/antiores.asp>, acesso em: 26 jun 2019.

SCHIAVO, L. et al. Nutritional issues in patients with obesity and cirrhosis. **J Gastroenterol**, v.14;24(30), p.3330-3346, Aug 2018.

SCHWARTZ, G.G. et al. Efeitos do dalcetrapib em pacientes com uma síndrome coronária aguda recente. **NEJM.**, 2012.

SCOTECE, M. et al. Adipocinas induzem fatores pró-inflamatórios em células T ativadas Cd4 + de pacientes com osteoartrite. **J Orthop Res**, v.35, p.1299-1303, 2017..

SEE, F. et al. Fibrosis as a therapeutic target post-myocardial infarction. **Curr Pharm Des.**, v.11(4), p.477-87, 2005.

SESHASAI, S.R. et al. Consórcio de Fatores de Risco Emergentes. Diabetes mellitus, glicose em jejum e risco de morte específica da causa. **N Engl J Med.**, v.364, p.829-841, 2011.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 397-409, Dez. 2004.

SHIMIZU, M. Food-derived peptides and intestinal functions. **Biofactors**, v.21, p.43–47, 2004.

SHIMOMURA, I. et al. A insulina aumenta seletivamente SREBP - 1c mRNA nos fígados de ratos com diabetes induzido pela estreptozotocina. **Proc Natl Acad Sci, USA**, v.96, p.13656-1366, 1999.

SILVA, D.C.P. da et al. Papel dos miRNAs na Fisiopatologia das Doenças Cardiovasculares. **Arq. Bras. Cardiol.** São Paulo, v.111, n.5, p.738-746, nov. 2018.

SILVA, F.M.O. da et al. Fatores ambientais associados à obesidade em população adulta de um município brasileiro de médio porte. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 5, 2019.

SINGH, H. Propriedades funcionais das proteínas do leite Em: FUQUAY, J.W.; FOX, P.F.; Mc SWEENEY, P.L.H. editores. **A Enciclopédia das Ciências do Leite**. 2º ed. Academic Press; 2011; pp 887-893.

SMYTH, E.; CLEGG, R.A.; HOLT, C. A biological perspective on the structure and function of caseins and casein micelles. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, p. 121-126, 2004.

SNIJDERS, T. et al. A ingestão de proteínas antes do sono aumenta a massa muscular e os ganhos de força durante o tipo de resistência prolongada treinamento físico em homens jovens saudáveis. **J. Nutr.**, v.145, p.1178–1184, 2015.

SOARE, A.; WEISS, E.P.; POZZILLI, P. Benefícios da restrição calórica para a saúde cardiometabólica, incluindo o risco de diabetes mellitus tipo 2. **Diabetes. Metab. Res. Rev.**, v.30 (Suplemento 1), p.41-47, 2014.

SOUSA, G.T.D. et al. Dietary whey protein lessens several risk factors for metabolic diseases: a review. **Lip Health Disease**, v.11(67), p.3-9, 2012.

STELWAGEN, K. Proteínas do leite Em: FUQUAY, J.W.; FOX, P.F.; Mc SWEENEY, P.L.H. editores. **A Enciclopédia das Ciências do Leite**. 2º ed. Academic Press; 2011; pp 359-366.

SWINBURN, B. et al. Strengthening of accountability systems to create healthy food environments and reduce global obesity. **Lancet**, v.385(9986), p.2534-2545, 2015.

SWINBURN, B. et al. Strengthening of accountability systems to create healthy food environments and reduce global obesity. **Lancet.**, v.385(9986), p.2534-2545, 2015.

TANG, C. et al. A perda de FFA2 e FFA3 aumenta a secreção de insulina e melhora a tolerância à glicose no diabetes tipo 2. **Nat. Med.**, v.21, p.173-177, 2015.

TAYLOR, S.R.; MEADOWCRAFT, L.M.; WILLIAMSON, B. Prevalência, fisiopatologia e controle da deficiência androgênica em homens com síndrome metabólica, diabetes mellitus tipo 2 ou ambos. **Farmacoterapia**, v.35, p.780–792, 2015.

TENENBAUM, A.; KLEMPFNER, R.; FISMAN, E.Z. Hipertrigliceridemia: Um fator de risco cardiovascular muito longo injustamente negligenciado. **Cardiovasc. Diabetol.**, v.13, p.159, 2014.

TONIOLO, A. et al. The diabetes pandemic and associated infections: suggestions for clinical microbiology. **Rev Med Microbiol.**, v.30(1), p.1-17, Jan 2019.

TRANBERG, B. et al. Whey-reduced weight gain is associated with a temporary growth reduction in young mice fed a high-fat diet. **J Nutr Biochem.**, v.26, p.9-15, 2014.

TUOMI, T. et al. As muitas faces da diabetes: uma doença com crescente heterogeneidade. **Lancet**, v.383, p.1084-1094, 2014.

URIBARRI, J. et al. Dietary glycotoxins correlate with circulating advanced glycation end product levels in renal failure patients. **Am J Kidney Dis.**, v.42, p.532-8; 2003.

VANDER, H.A.A.W.A. et al. Risco de um evento cardiovascular recorrente em indivíduos com diabetes tipo 2 ou hiperglicemia intermediária: o Estudo Hoorn. **Diabetes Care**, v.36, p. 3498–3502, 2013.

VELMURUGAN, G. et al. Microbiota Ramasamy S. Gut, produtos químicos de desregulação endócrina e a epidemia de diabetes. **Tendências Endocrinol. Metab.**, v.28, p.612-625, 2017.

VERHUSLST, M.J.L. et al. Evaluating All Potential Oral Complications of Diabetes Mellitus. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v.18, p.10:56, Feb 2019.

VINCENT, D. et al. Quantificação e Identificação das Principais Proteínas do Leite Intactas para Análises de MS de Alta Produtividade LC-ESI-Q-TOF. **PLoS One**, v.11 (10): e0163471, Out 2016.

VON BERG, A. et al. O efeito preventivo de fórmulas infantis hidrolisadas persiste até os 6 anos de idade: resultados a longo prazo do Estudo Alemão sobre Intervenção Nutricional Infantil (GINI). **O Jornal de alergia e imunologia clínica**, v.121 (6), p.1442-7, 2008.

WAJCHENBERG, B.L. Tecido adiposo subcutâneo e visceral: sua relação com a síndrome metabólica. **Endocr. Rev.** 2000.

WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist? **International Dairy Journal**, v. 9, p. 189-192, 1999.

WALSTRA, P. et al. Dairy science and technology. **New York: Taylor & Francis Group**, 2006. 768 p.

WANDERLEY, E.M.; FERREIRA, V.A. Obesidade: uma perspectiva plural. **Cien Saude Colet**, v.15(1), p.185-194, 2010.

WELZELT, M. et al. A síndrome metabólica aumenta o risco de câncer primário de fígado nos Estados Unidos: um estudo no banco de dados SEER-Medicare. **Hepatologia**, v.54, p.463-471, 2011.

WEN-QING, N. et al. Serum lipids and associated factors of dyslipidemia in the adult population in Shenzhen. **Lipids Health Dis.**, v.14, p.71, 2015.

WHO - World Health Organization. Dados do Global Health Observatory (GHO). Excesso de peso e obesidade. Copenhagen: OMS; 2018. Disponível em: http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight_obesity/obesity_adults/en/, acesso em: 07 jul 2019.

WHO - World Health Organization. Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: **World Health Organ Tech Rep Ser**, 2003.

WIERNSPERGER, N. Função hepática e síndrome cardiometabólica. **Diabetes. Metab. Syndr. Obes.**, v.6, p.379-388, 2013.

World Health Organization. (WHO). World Health Statistics 2018: **Monitoring health for the SDGs.** Disponível em: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2018/en/, acesso em: 08 jul 2019.

WORTHAM, M.; SANDER, M. High células T dá um impulso às células β . **Metab.**, v.23, p.761-763, 2016.

YAMAMOTO, K. L. et al. Prevalence and interrelations of cardiovascular risk factors in urban and rural Mexican adolescents. **J Adolesc Health**, v.38(5), p.591-598, 2006.

YAMAZAK, H. et al. Associação independente entre melhora de doença hepática gordurosa não alcoólica e incidência reduzida de diabete melitus tipo 2. **Diabetes Care**, v.38, p.1673-1679, 2015.

YANG, K.C. et al. Associação de doença hepática gordurosa não alcoólica com síndrome metabólica, independentemente da obesidade central e resistência à insulina. **Sci. Rep.**, v.6, p.27034, 2016.

YI, B. et al. "Different role of zinc transporter 8 between type 1 diabetes mellitus and type 2 diabetes mellitus." **Journal of diabetes investigation**, vol. 7,4, p.459-65, 2016.

YOUNOSSI, Z.M. et al. Epidemiologia global da avaliação de meta-análise de doença hepática gordurosa não alcoólica da prevalência, incidência e resultados. **Hepatologia**, v.64, p.73-84, 2016.

ZANCHET, E. M.; BRIDI, A.; PETRY, L.; SIMÕES, R. R.; FRANÇA, R. T.; ANJOS, S. T. L. A dieta ad libitum versus a saúde de ratos Wistar. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**. Curitiba. v. 10, n. 3, p.311-316, 2012.

ANEXO A – Carta de Aprovação

CARTA DE APROVAÇÃO

Processo/ Process CEUA – 029/2018

Protocolo UEPG – 7707/2018

Título – . “Influência da caseína nas alterações hepáticas e cardíacas em ratos submetidos a uma dieta de cafeteria”

Interessado – Dionizia Xavier Scomparin e Karoline Rodrigues Pasqualoto

e-mail: scomparindio@hotmail.com


Data de Entrada – 24/07/2018

Resultado: Aprovado

Considerações

A comissão de Ética no Uso de animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG) certifica que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa acima especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), estabelecidas pelo Conselho Nacional para fins de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Dessa forma, fica autorizada a utilização de 48 ratos machos e 48 ratas fêmeas de 21 dias, totalizando 96 animais para a execução desse projeto.

Ponta Grossa, 28 de agosto de 2018



Profa. Dra. Dionizia Xavier Scomparin
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA-UEPG