

## Trabajo completo

# Efectos de la proteína de soja aislada sobre la hipertensión y el alterado metabolismo de la glucosa en músculo cardíaco de ratas dislipémicas insulino resistentes

RECIBIDO: 23/08/2016

REVISION: 23/09/2016

ACEPTADO: 05/10/2016

**Oliva, M.E. • Chicco, A.G. • Lombardo, Y.B.**

Departamento de Ciencias Biológicas. Cátedra de Química Biológica. Laboratorio de Estudio de Enfermedades Metabólicas relacionadas con la nutrición. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. Paraje El Pozo S/N. S3000ZAA, CC 242, Santa Fe, Argentina. Teléfono: 54-342-4575211 e-mail: meoliva@fcb.unl.edu.ar

**RESUMEN:** El objetivo del trabajo fue analizar los efectos de la administración de proteína de soja aislada, sobre la hipertensión y alteraciones del metabolismo de la glucosa presentes en el músculo cardíaco de ratas dislipémicas insulino resistentes, inducidas por una ingesta crónica de una dieta rica en sacarosa (DRS). Ratas machos Wistar recibieron durante 4 meses DRS. Finalizado este período, la mitad de los animales continuó con la DRS y en la otra mitad la proteína de soja aislada sustituyó a la caseína como fuente proteica (DRS+PS) durante 4 meses adicionales. El grupo control (DC) consumió dieta control durante toda la experiencia. Los resultados alcanzados demuestran que ésta manipulación dietaria fue capaz de revertir la hipertensión arterial normalizando la alterada fosforilación de la glucosa –estimada por la actividad

hexoquinasa- y el contenido de glucosa-6-fosfato y glucógeno en el músculo cardíaco. La sustitución de caseína por proteína de soja como fuente proteica normalizó los niveles plasmáticos de triglicéridos, ácidos grasos no esterificados y la moderada hiperglucemia sin cambios en la insulinemia. La sensibilidad insulínica periférica global mejoró notablemente aunque sin alcanzar valores del grupo DC. Los resultados obtenidos muestran a la proteína de soja dietaria como una herramienta nutricional capaz de normalizar la presión arterial, la fosforilación y la vía no oxidativa de la glucosa en el músculo cardíaco en este modelo experimental.

**PALABRAS CLAVES:** proteína de soja, dislipidemia, hipertensión, músculo cardíaco.

**SUMMARY:** *Effects of isolated soy protein on blood pressure and altered glucose metabolism in the heart muscle of dyslipemic insulin-resistant rats.*

The present study analyzes the effect of dietary isolated soy protein on hypertension and impaired glucose metabolism present in the heart muscle of dyslipemic insulin-resistant rats fed a sucrose-rich diet (SRD). Male Wistar rats received a SRD for 4 months. At this time half of the animals continue with the same diet for up to 8 months, the other half was fed an SRD in which isolated soy protein replaced casein as protein source (DRS+PS) for 4 additional months. The control group (CD) consumed control diet throughout the experimental diet. The results obtained show that this dietary manipulation was able to reverse the hypertension normalizing

the altered glucose phosphorylation -estimated by hexokinase activity- and glucose 6-phosphate and glycogen content in the heart muscle of SRD fed rats. The replacement of soy protein by casein as protein source normalized plasma levels of triglycerides, NEFA and the moderate hyperglycemia without change of insulinemia. Although the whole body peripheral insulin sensitivity improved significantly values were still higher than those of CD group. The results showed that the dietary soy protein could be a nutritional tool capable to normalized blood pressure, and heart muscle glucose phosphorylation as well as the nonoxidative pathway of glucose in this experimental animal model.

**KEY WORDS:** soy protein, dyslipidemia, hypertension, heart muscle.

## Introducción

El síndrome metabólico (SM) comprende un conjunto interrelacionado de desórdenes metabólicos que incluyen entre otros: diabetes tipo 2, resistencia insulínica, dislipemia, obesidad, adiposidad central e hipertensión arterial, las que en su conjunto constituyen factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares (1,2).

La dieta (incremento del consumo de grasas saturadas, azúcares refinados: sacarosa, fructosa) y el sedentarismo junto con la genética, juegan un rol importante entre los principales factores de riesgo que contribuyen al aumento del SM incluyendo las enfermedades cardiovasculares, las cuales representan la mayor causa de muerte en nuestro país y en el mundo (3). Un componente de la dieta que ha recibido conside-

rable atención por sus potenciales efectos cardioprotectores es la soja, que contiene proteínas con alto contenido de arginina, cisteína y glicina, fibras y compuestos bioactivos conocidos como isoflavonas, entre sus principales constituyentes (4).

Estudios epidemiológicos y de intervención nutricional en humanos y en animales de experimentación sugieren que la proteína de soja tiene efectos protectores en numerosos desórdenes metabólicos incluyendo la hiperlipidemia, diabetes, obesidad y las enfermedades cardiovasculares (5,6). El consumo de proteína de soja disminuye los niveles de colesterol, colesterol-LDL y triglicéridos plasmáticos tanto en humanos como en animales de experimentación (7,8).

Muchas de las alteraciones que conforman el SM se pueden inducir experimental-

mente mediante la administración de dietas ricas en hidratos de carbono simples (fructosa o sacarosa). Estudios previos de nuestro grupo han demostrado que ratas normales alimentadas crónicamente con dietas ricas en sacarosa (DRS) desarrollan dislipemia, alterada homeostasis de la glucosa, resistencia insulínica, lipotoxicidad e hipertensión. En el músculo cardíaco de estos animales se observó una alteración de las vías no oxidativas y oxidativas de la glucosa (9-12).

Utilizando este modelo experimental hemos demostrado recientemente que la sustitución de caseína por proteína de soja aislada como fuente proteica en la DRS normaliza el peso corporal, la dislipidemia y el contenido de lípidos en el hígado y músculo esquelético; mejorando la alterada homeostasis de la glucosa (13-15).

Al presente, no conocemos estudios que analicen el posible efecto beneficioso de la proteína de soja sobre las alteraciones bioquímicas-metabólicas del músculo cardíaco inducidas por la ingesta crónica de DRS.

De lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue dilucidar si un cambio en la composición de la fuente proteica dietaria: caseína por proteína de soja aislada podría mejorar o revertir la hipertensión y algunas de las alteraciones del metabolismo de la glucosa en el músculo cardíaco en este modelo experimental.

## **Materiales y métodos**

### *Animales y dietas*

Se utilizaron ratas macho Wistar provenientes del Instituto Nacional de Farmacología (Buenos Aires, Argentina) con un peso inicial de 180 g (adultos jóvenes). Los anima-

les se mantuvieron bajo condiciones de temperatura ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y humedad controladas, con un ciclo luz-oscuridad de 12 horas (7:00-19:00 h) con libre acceso al agua y a una dieta estándar comercial de laboratorio (Ralston, Purina, St. Louis, MO, USA). Luego de una semana de aclimatación los animales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos. El grupo control (DC) ( $n=24$ ) recibió una dieta semisintética (% en peso): almidón: 62,5, aceite de maíz: 7 y proteínas: 18. El grupo DRS ( $n=48$ ) recibió la misma dieta semisintética donde la sacarosa sustituyó al almidón como fuente de hidratos de carbono. Al cabo de 4 meses, los animales del grupo DRS fueron divididos al azar en 2 subgrupos: uno de ellos continuó con la DRS mientras que el otro recibió la DRS donde la proteína de soja reemplazó a la caseína como fuente de proteína dietaria (DRS+PS) durante 4 meses adicionales. Los detalles de como se realizó la selección de este tiempo fueron publicados en un trabajo anterior del grupo (16). Los animales del grupo DC continuaron con la misma alimentación hasta el final de la experiencia (8 meses). La Tabla 1 muestra la composición de las dietas cuyos componentes se basan en las recomendaciones del Comité ad hoc del "American Institute of Nutrition" (17). Las mismas fueron preparadas semanalmente y mantenidas a  $4^\circ\text{C}$  hasta el momento del consumo. Todas proveen aproximadamente 16,30 KJ/g de comida y se administraron "ad libitum".

Durante todo el período experimental se determinó la ganancia de peso y la ingesta calórica de las ratas pertenecientes a cada grupo dietario.

**Tabla 1:** Composición de las dietas experimentales:<sup>1</sup>

Componentes	DC		DRS		DRS+PS	
	% en Peso	% en KJ	% en Peso	% en KJ	% en Peso	% en KJ
Almidón	62,5	65,8	-	-	-	-
Sacarosa	-	-	62,5	65,8	62,5	65,8
Caseína	18	17,4	18	17,4	-	-
Proteína de Soja *	-	-	-	-	18	17,4
Aceita de maíz	7	16,8	7	16,8	7	16,8
Vitaminas <sup>2</sup>	1		1		1	
Fibras	7,5		7,5		7,5	
Sales <sup>3</sup>	3,5		3,5		3,5	
Colina bitartrato	0,2		0,2		0,2	
Metionina	0,3		0,3		0,3	

<sup>1</sup> DC: Dieta control; DRS: Dieta rica en sacarosa; DRS+PS: DRS + proteína de soja aislada.

<sup>2</sup> Mezcla de vitaminas AIN-93M-MX (g/kg de dieta): Vitamina A (500.000 UI/g) 0.8; Vitamina D<sub>3</sub> (400.000 UI/kg) 2.75; Vitamina E (500 UI/g) 15.0; vitamina K 0.075; Biotina 0.020; Vitamina B<sub>12</sub> 2500; Acido Fólico 0.200; Niacina 3.0; Pantotenato de calcio 1.6; Piridoxina HCl 0.7; Riboflavina 0.6; Tiamina HCl 0.6.

<sup>3</sup> Mezcla de sales AIN-93M-MX (g/kg de dieta): Carbonato de calcio 357.0; Fosfato monobásico de potasio 250; Cloruro de sodio 74; Sulfato de potasio 46.6; Citrato de potasio monohidratado 28.0; Oxido de magnesio 24.0; Citrato ferrico 6.06; Carbonato de zinc 1.65; Carbonato de magnesio 0.63; Carbonato cuprico 0.30; Yodato de potasio 0.01; Selenato de sodio 0.01025; Molibdato de amonio 0.00795; Cromato de potasio 0.275.

\* La proteína de soja aislada utilizada fue suministrada por MP biochemicals, USA y contiene (g/100 g): proteína 92.0, humedad 6.0, cenizas 4.1, grasa 0.8, fibra 0.25, carbohidratos 2.85, calcio 0.15, fósforo 0.8, potasio 0.05, sodio 1.3, trypsin inhibidor 4.9 – 7.3 mg/gr.

### Métodos analíticos

Finalizado el período experimental, los animales fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (60 mg/kg peso corporal). Las muestras de sangre obtenidas de la vena cava inferior fueron centrifugadas a 4 °C. El suero obtenido fue utilizado inmediatamente o conservado a -20 °C hasta su procesamiento. Los niveles plasmáticos de triglicéridos (TG), ácidos grasos no esterificados (AGNE) y glucosa fueron cuantificados por métodos espectrofotométricos convencionales (18–20). La insulina plas-

mática se determinó mediante el ensayo inmunoreactivo de Herbert (21) utilizando un estándar de insulina de rata (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca). El músculo cardíaco fue inmediatamente removido, pesado y congelado a -80 °C hasta su procesamiento.

### Determinación de la presión sanguínea

La presión arterial se midió al inicio, a los 4 meses de administración de la dieta y al final del periodo experimental en animales conscientes de los diferentes grupos dietarios mantenidos a 28°C en un tubo de res-

tricción utilizando un monitor CODA TM of tail-cuff non-invasive blood pressure system (Kent Scientific Corporation, Torrington, CT, USA). Los valores obtenidos se presentan como la media  $\pm$  SEM de 8 determinaciones individuales.

*Contenido de glucosa-6-fosfato, glucógeno y actividad de la enzima hexoquinasa en músculo cardíaco.*

El contenido de glucose-6-fosfato, glucógeno y la actividad de la enzima hexoquinasa se determinaron en homogeneizado de músculo cardíaco, como se describió previamente (11,12). Los niveles de glucosa-6-fosfato y glucógeno se expresan como  $\mu\text{mol/gr}$  de tejido húmedo. La actividad enzimática hexoquinasa se expresa como mU/ mg de proteína.

*Clamp euglucémica-hiperinsulinémica.*

La sensibilidad insulínica periférica global fue evaluada utilizando la técnica de la clamp euglucémica-hiperinsulinémica como se ha descrito previamente (22). Brevemente, luego de 5 horas de ayuno, las ratas fueron anestesiadas, y los niveles de glucosa e insulina fueron evaluados. Una solución de insulina porcina altamente purificada (Actrapid, Novo Nordisk, Bagsvard, Denmark) fue administrada a una velocidad constante de 0.8 unidades/(kg x h) durante dos horas. La glucemia fue mantenida a niveles euglucémicos por la infusión de glucosa a velocidad variable. La velocidad de infusión de glucosa (VIG) en el estado estacionario (durante la segunda

hora de la clamp) fue considerada como la velocidad de captación periférica global de glucosa y fue expresada como mg glucosa/(Kg x min).

*Análisis estadístico*

Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM. El estudio estadístico entre grupos se realizó por ANOVA y posterior test de Newman Keuls, utilizando el programa estadístico SPSS 10.0. Valores de  $p < 0.05$  fueron considerados estadísticamente significativos (23).

## **Resultados**

*Peso corporal, ingesta calórica y peso del músculo cardíaco*

Como se muestra en la Tabla 2, el peso corporal y la ingesta calórica es similar en los tres lotes experimentales luego de 4 meses de ingesta. Al finalizar el periodo experimental el lote DRS presenta un significativo incremento en el peso corporal ( $p < 0,05$ ) y la ingesta calórica ( $p < 0,05$ ) cuando se los compara con el lote control (DC). La sustitución de caseína por proteína de soja (DRS+PS) normalizó ambos parámetros con valores que no difieren del observado en las ratas alimentadas con DC. Con respecto al peso del músculo cardíaco al final del período experimental se observó un aumento significativo en las ratas alimentadas con DRS, mientras que en el grupo DRS+PS se observan valores semejantes al grupo control DC. Por el contrario, los pesos relativos (g/100g rata) fueron similares en todos los grupos dietarios.

**Tabla 2.** Peso corporal, ingesta calórica y peso del músculo cardíaco en ratas alimentadas con dieta control (DC), dieta rica en sacarosa (DRS) o DRS + Proteína de soja (DRS+PS).

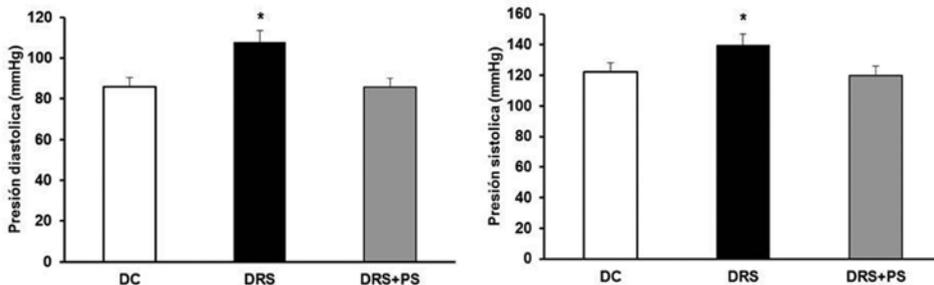
	DC	DRS	DRS+PS
<b>Peso corporal (g)</b>			
Inicial	186.5 ± 3.7	187.0 ± 2.8	
4 meses	401.0 ± 9.2	406.0 ± 8.5	409.1 ± 7.0
Final (8 meses)	488.0 ± 6.2	518.3 ± 5.6 *	495.3 ± 9.9
<b>Ingesta calórica (kJ/día)</b>			
Inicial – 4 meses	270.4 ± 9.7	275.1 ± 10.0	
4 – 8 meses	276.8 ± 12.6	346.3 ± 10.8 *	277.5 ± 8.4
<b>Músculo cardíaco</b>			
Peso (g)	1,24 ± 0,01	1,31 ± 0,03 *	1,23 ± 0,04
g /100 g rata	0,260 ± 0,003	0,250 ± 0,004	0,240 ± 0,007

Los valores se expresan como media ± SEM; n = 6. \* p<0.05 DRS vs. DC y DRS+PS.

#### Presión sanguínea

Los niveles de presión diastólica y sistólica fueron similares al comienzo del periodo experimental (datos no mostrados). Luego de 4 meses de dieta, ambas presiones fueron significativamente mayores en el grupo DRS. Los valores fueron los siguientes: Presión diastólica (mmHg), media ± SEM (n = 8): DC: 80,2 ± 0,8; DRS: 96,3 ± 0,9\*. Presión sistólica (mmHg), media ± SEM (n = 8): DC: 118,2 ± 1,2; DRS: 136,4 ± 1,3\* (\*

p<0,05 DRS vs. DC). En la Fig. 1 se observan los niveles de ambas presiones al final del periodo experimental. Los niveles de presión diastólica y sistólica del grupo DRS fueron significativamente mayores (p<0,05) respecto del grupo DC. El reemplazo de la fuente proteica (caseína por proteína de soja en la DRS) normalizó los niveles de ambas presiones, observándose valores comparables con aquellos obtenidos para el grupo alimentado con DC.



**Figura 1.** Presión arterial sistólica y diastólica al final del periodo experimental en los animales alimentados con dieta control (DC), dieta rica en sacarosa (DRS) o DRS +proteína de soja aislada (DRS+PS).

Los resultados son expresados como media ± SEM (n=6). \* p<0.05 DRS vs. DC y DRS+PS

*Parámetros plasmáticos*

Corroborando estudios previos (13,14), los niveles plasmáticos de TG, AGNE y glucosa fueron significativamente más elevados en los animales alimentados con DRS cuando se los compara con el grupo DC. Todos estos parámetros retornan a los valo-

res observados en el grupo control cuando la proteína de soja sustituyó a la caseína como fuente proteica en la DRS. No se observaron diferencias significativas en los niveles de insulina plasmática al final del período experimental entre los 3 grupos dietarios (Tabla 3).

**Tabla 3.** Parámetros plasmáticos al final del período experimental en ratas alimentadas con dieta control (DC), dieta rica en sacarosa (DRS) o DRS + Proteína de soja (DRS+PS).

	DC	DRS	DRS+PS
<b>TG (mM)</b>	0,67 ± 0,04	1,65 ± 0,05 *	0,69 ± 0,05
<b>AGNE (μM)</b>	314,0 ± 10,2	721,0 ± 20,5 *	326,1 ± 24,0
<b>Glucosa (mM)</b>	6,2 ± 0,2	8,1 ± 0,3 *	6,7 ± 0,3
<b>Insulina (pM)</b>	375,0 ± 30,3	368,0 ± 28,3	370,0 ± 27,2

Los valores se expresan como media ± SEM; n = 6. \* p<0.05 DRS vs. DC y DRS+PS.

*Actividad de la enzima hexoquinasa, contenido de glucosa-6-fosfato y glucógeno en músculo cardíaco. Sensibilidad insulínica periférica global (VIG).*

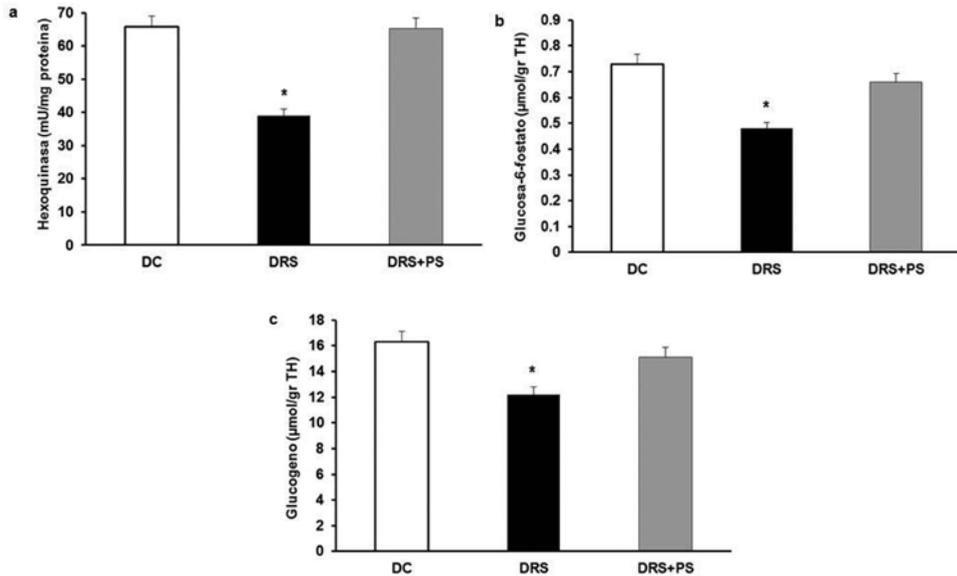
En la Fig. 2a se observa la actividad de la enzima hexoquinasa en los 3 grupos dietarios al finalizar el período experimental. La disminuida actividad enzimática en el corazón de los animales alimentados con DRS, incrementa alcanzando valores normales con la administración de proteína de soja. Cambios similares se observan en el contenido de glucosa-6-fosfato (Fig. 2b) y de glucógeno (Fig. 2c). Por último y corroborando resultados previos (22), la sensibilidad insulínica periférica global (VIG) fue significativamente inferior en los animales alimentados con DRS en comparación con aquellos alimentados con DC. Al sustituir la fuente proteica caseína por proteína de soja aislada, observamos un significativo incremento de VIG aunque sin alcanzar los niveles de los animales controles. Los valores fueron los siguientes: VIG (mg/Kg x min), media ±

SEM (n = 8): DC: 11,3 ± 0,5; DRS: 4,5 ± 0,4\*; DRS+PS: 8,4 ± 0,7\*\*. (\* p<0,05 DRS vs. DC; \*\* p<0,05 DRS+PS vs. DC y DRS)

**Discusión**

El objetivo del presente trabajo fue analizar los posibles efectos beneficiosos de la sustitución de caseína por proteína de soja aislada sobre la hipertensión y alteraciones del metabolismo de la glucosa en el músculo cardíaco presentes en animales dislipémicos insulino resistentes. Los resultados alcanzados demuestran que ésta manipulación dietaria fue capaz de: **i)** Normalizar la hipertensión, el peso corporal y la ingesta calórica. **ii)** Revertir la alterada fosforilación de la glucosa y el contenido de glucosa-6-fosfato y glucógeno. Estos efectos se acompañaron de una normalización de la dislipemia y moderada hiperglucemia mejorando la sensibilidad insulínica periférica global.

Con respecto a la normalización del peso corporal y la ingesta calórica, las isoflavono-



**Figura 2:** Actividad hexoquinasa (a) y contenido de glucosa-6-fosfato (b) y glucógeno (c) en músculo cardíaco en los animales alimentados con dieta control (DC), dieta rica en sacarosa (DRS) o DRS+proteína de soja aislada (DRS+PS).

Los resultados son expresados como media  $\pm$  SEM (n=6). \*  $p < 0.05$  DRS vs. DC y DRS+PS

nas podrían reducir la grasa corporal. Además la  $\beta$ -conglucina – la principal proteína de la soja- se cree que reduce la ingesta de alimentos y el vaciado gástrico aumentando los niveles de colecistoquinina, mediador fisiológico que actúa como una señal de sensación de saciedad, como se describió previamente (14).

Estudios previos de nuestro grupo y otros investigadores (12,24) constataron que la administración de una DRS induce un incremento de la presión arterial. Los resultados del presente trabajo señalan que un cambio en la fuente proteica (caseína por proteína de soja) fue capaz de normalizar la hipertensión. En esta línea, Yang y col. (25) mostraron en ratas machos espontáneamente hipertensivas un retraso en el desarrollo de hipertensión cuando se administró durante 6 sema-

nas proteína de soja hidrolizada. Más aun, Kienzle Hagen y col. (26) observaron en ratas machos Wistar con infarto de miocardio inducido, que la administración de proteína de soja mejoró la hipertensión arterial y el estrés oxidativo del músculo cardíaco. Con respecto a que componentes de la soja estarían involucrados en este aspecto, Vasdev y col. (27) sugiere que varios componentes de la proteína de soja ayudarían a disminuir la presión arterial. Las isoflavonas pueden actuar como fitoestrogenos y de esta manera influir en la función endotelial de los vasos sanguíneos, mientras el alto contenido de arginina presente en la proteína de soja contribuye a mejorar la función endotelial y la resistencia vascular periférica.

La sustitución de caseína por proteína de soja, normalizó la alterada fosforilación de

la glucosa –estimada por la actividad hexoquinasa-, incrementando el contenido de glucosa-6-fosfato y glucógeno que alcanzaron valores similares al grupo control. Al respecto, hasta el presente no conocemos otras investigaciones que evalúen los efectos de la proteína de soja dietaria sobre el metabolismo de la glucosa en músculo cardíaco en modelos animales de dislipemia y resistencia insulínica inducidos por la administración crónica de una DRS. Sin embargo, algunos trabajos podrían aclarar en parte estos resultados. En este sentido, utilizando el mismo diseño experimental, recientemente demostramos que la administración de proteína de soja normaliza el contenido de glucosa-6-fosfato y glucógeno mejorando los niveles de la masa proteica del Glut-4 bajo la acción de la insulina en el músculo esquelético de ratas alimentadas con DRS (15). Malarde y col. (28) en ratas machos Wistar normales que recibieron durante 3 semanas por vía oral una suplementación con soja fermentada observaron un incremento del transporte de la glucosa en músculo esquelético y de la conversión de glucosa a glucógeno. Cederrroth y col. (29) administrando a ratones machos dietas isocalóricas con alto o bajo contenido de soja como fuente proteica, observaron un significativo incremento en la sensibilidad insulínica periférica global y mayor captación de glucosa por el músculo esquelético en aquellos animales que consumieron dietas con alto contenido de soja. Recientemente, Vinayagam y Xu (30) analizaron los trabajos realizados en los últimos 10 años sobre los efectos antidiabéticos de las isoflavonas de la proteína de soja. En este sentido, observaron que la genisteína, una de las principales isoflavonas, mejora el perfil lipídico, la hiperglucemia, la tole-

rancia a la glucosa y la sensibilidad insulínica. De manera similar, la daidzeína pareciera ejercer efectos antidiabéticos a través de una mejora del metabolismo lipídico y de la glucosa. La proteína de soja utilizada en el presente estudio contiene isoflavonas por lo que no podemos descartar la posibilidad que estas jueguen un rol importante en nuestros hallazgos.

Finalmente, debemos tener en cuenta la posible participación de otros constituyentes de la proteína de soja, como son las proteínas (conglycinina, glycinina), saponinas, ácido fitico, entre otros (31), podrían también contribuir a la reversión de la hipertensión y de algunos de los mecanismos involucrados en el metabolismo de la glucosa en músculo cardíaco en ratas dislipémicas insulínicas resistentes.

### **Conclusión**

En resumen, los resultados alcanzados en este trabajo aportan nuevos datos sobre los efectos beneficiosos de la administración de proteína de soja dietaria sobre la hipertensión y el alterado metabolismo de la glucosa en músculo cardíaco observadas en este modelo experimental, el cual se asemeja en varios aspectos funcionales, bioquímicos y metabólicos, al síndrome plurimetabólico presente en humanos.

### **Agradecimientos**

El presente estudio fue financiado por subsidios la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) PICT 945/2011 y CONICET PIP #0105/2011.

### **Referencias bibliográficas**

1. Alberti, K.G.; Robert, H.; Eckel, M.D.; Scott, M.; Grundy, M.D.; Zimmet, PZ.; Cleeman, JI.; Donato, KA.; Fruchart, J.; James, WP; Loria, CM.; Smithet,

- SC. 2009. Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation* **120**:1640-1645.
2. Lorenzo, C.; Williams, K.; Hunt, KJ.; Haffner, SM. 2007. The national cholesterol education program—adult treatment panel III, International Diabetes Federation, and World Health Organization Definitions of the Metabolic Syndrome as Predictors of Incident Cardiovascular Disease and Diabetes. *Diabetes Care* **30**:8-13.
3. Gaziano, TA.; Bitton, A.; Anand, S.; Abrahams-Gessel, S.; Murphy, A. 2010. Growing epidemic of coronary heart disease in low- and middle-income countries. *Curr. Probl. Cardiol.* **35**, 75-115.
4. Cena, E.; Steinberg, F. 2011. Soy may help protect against cardiovascular disease. *California agriculture* 65.3.
5. Bathena, S.; Velasquez, M. 2002. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* **76**:1190-1201.
6. Xiao, C. 2008. Health effects of soy protein and isoflavonas in humans. *J. Nutr.* 138: 1244S-1249S.
7. Velásquez, MT.; Bhathena, SJ. 2007. Role of Dietary Soy Protein in Obesity. *Int. J. Med.Sci.* **4**, 2: 72-82.
8. Sack, F.; Lichtenstein, A.; Van Horn, L.; Harris, W.; Kris-Etherton, P.; Winston, M. 2006. Soy protein, isoflavones and cardiovascular health. *Circulation* **113**: 1034-1044.
9. Lombardo, YB.; Chicco, A. 2006. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *J. Nutr. Biochem.*, **17**: 1-13.
10. Montes, M.; Chicco, A.; Lombardo, YB. 2000. The effect of insulin on the uptake and metabolic fate of glucose in isolated perfused hearts of dyslipemic rats. *J. Nutr. Biochem.* **11**:30-37.
11. D'Alessandro, ME.; Chicco, A.; Lombardo, YB. 2008. Dietary fish oil reverses lipotoxicity, altered glucose metabolism, and nPKC $\epsilon$  translocation in the heart of dyslipemic insulin-resistant rats. *Met. Clin. and Exper.* **57**: 911-919.
12. Creus, A.; Ferreira, MR.; Oliva, ME.; Lombardo, YB. 2016. Mechanisms involved in the improvement of lipotoxicity and impaired lipid metabolism by dietary  $\alpha$ -linolenic acid rich *Salvia hispanica* L (Salba) seed in the heart of dyslipemic insulin-resistant rats. *J. Clinical Med.* **5**,18:doi:103390/jcm5020018.
13. Oliva, ME.; Chicco, AG.; Lombardo, YB. 2009. Soy protein reverse dyslipidemia and the altered capacity of insulina stimulated glucose utilization in skeletal muscle of sucrose-rich fed rats. *Brit. J. of Nutr.*, **102**: 60-68.
14. Oliva, ME.; Selenscig, D.; D'Alessandro, ME.; Chicco, A.; Lombardo, YB. 2011. Soya protein ameliorates the metabolic abnormalities of dysfunctional adipose tissue of dyslipemic insulin resistant rat model. *British Journal of nutrition* **105**(8):1188-1198.
15. Oliva, ME.; Chicco, A.; Lombardo, YB. 2015. Mechanisms underlying the beneficial effect of soy protein in improving the metabolic abnormalities in the liver and skeletal muscle of dyslipemic insulin resistant rats. *European Journal of Nutrition* **54**:407-419.
16. Oliva, M.E.; Chicco, A.G.; Fortino, M.A.; Lombardo, YB. 2011. Efectos de la sustitución de caseína por proteína de soja aislada como fuente proteica en dislipemia experimental. *Revista FABICIB* **12**: 57-67.
17. Reeves, PG.; Nielsen, FH.; Fahey, GC. 1993. AIN-93 Purified for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* **123**: 1939-1951
18. Lombardo, YB.; Chicco, A.; D'Alessandro, ME.; Martinelli, M.; Soria, A.; Gutman, R. 1996. Dietary fish oil normalize dyslipemia and glucosa intolerante with unchanged insulin levels in rats fed a high sucrose diet. *BBA* **1299**: 175-189.
19. Ber Waco Chemical. Acyl-CoA synthetase (ACS) acyl-CoA oxidase (ACOD). Method for the

- quantitative determination of nonesterified fatty acids in serum. Meus (Germany): Waco Chemical.
- 20.** Bergmeyer, HU. 1974. Methods for determination of metabolites. En: Bergmeyer, H. U. (Ed.), "Methods of enzymatic analysis". 2da. ed. New York: Academic Press, 1100–2110.
- 21.** Herbert, V.; Lan, KS.; Gottlieb, CH.; Bleicher, S. 1965. Coated charcoal immunoassay of insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **25**, 10:1375–1384.
- 22.** Chicco, A; D'Alessandro, ME; Karabatas, L, Pastorale, C.; Basabe, JC.; Lombardo, YB. 2003. Muscle lipid metabolism and insulin secretion are altered in insulin-resistant rats fed a high sucrose diet. *J Nutr* **133**, 127–133.
- 23.** Snedecor, GWP.; Cochran WG. 1967. "Statistical methods". Ames (Iowa): Iowa University Press; 339–350.
- 24.** Wang, YH.; Ho, H.; Hoffman, BB.; Reaven, GM. 1987. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* **10**, 5:512–516.
- 25.** Yang, H.; Yang, S.; Chen, S.; Chen J. 2008. Soy protein hydrolysate ameliorates cardiovascular remodeling in rats with L-NAME-induced hypertension. *Journal of Nutritional Biochemistry* **19**: 833–839.
- 26.** Kienzle Hagen, M.; Lehenbauer-Lüdke, A.; Paludo, A.; Schenkel, P.; Goncalves, L.; Gatelli Fernandez, T.; Caron, R.; Llesuy, S.; Geraldo Mill, J.; Bello-Klein, A. 2009. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* **9**:91-97.
- 27.** Vasdev, S.; Stuckless, J. 2010. Antihypertensive effects of dietary protein and its mechanism. *Int. J. Angiol.* **19**: e7-e20.
- 28.** Malarde, L.; Vincent, S.; Lefeuyre-Orfila, L.; Efstathiou, T.; Groussard, C.; Gratas-Delamarche, A. 2013. A fermented soy permeate improves the skeletal muscle glucose level without restoring the glycogen content in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Med. Food*, **16**: 176-179.
- 29.** Cederroth, CR.; Vinciguerra, M.; Gjinovci, A.; Kühne, F.; Klein, M.; Cederroth, M.; Caille, D.; Suter, M.; Neumann, D.; James, RW.; Doerge, DR.; Wallimann, T.; Meda, P.; Foti, M.; Rohner-Jeanrenaud, F.; Vassalli, J. y Nef, S. 2008. Dietary phytoestrogens activate AMP-activated protein kinase with improvement in lipid and glucose metabolism. *Diabetes*, **57**: 1176-1185.
- 30.** Vinayagam, R.; Xu, B. 2015. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutrition & Metabolism* **12**: 60-80.
- 31.** Erdman, J.W. 2000. Soy protein and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the AHA. *Circulation*, **14**: 2555-2559.