

## Trabajos

---

### Efectos de la sustitución de caseína por proteína de soja aislada como fuente proteica en dislipemia experimental

---

RECIBIDO: 20/5/08

ACEPTADO: 10/7/08

---

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

Departamento de Química Biológica. Cátedra de Química Biológica. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria Paraje "El Pozo". S3000ZAA Santa Fe. Argentina. Tel: 0342-4575211. Email: meoliva@fbc.unl.edu.ar

**RESUMEN:** El objetivo del trabajo fue analizar en forma secuencial si una vez alcanzada la dislipemia y resistencia insulínica estable en el modelo de dieta rica en sacarosa (DRS) el cambio del tipo de proteína de la dieta puede mejorar la dislipemia y la homeostasis de la glucosa. Para lograr este objetivo se alimentaron ratas Wistar con DRS por 4 meses y luego se sustituyó la caseína por proteína de soja aislada, obteniendo al final del periodo experimental (8 meses) una disminución significativa del peso corporal e ingesta calórica, una normalización de los niveles de triglicéridos y colesterol plasmáticos y triglicéridos hepáticos, además de una menor secreción hepática y mayor remoción plasmática de triglicéridos. En este mismo periodo los niveles de glucosa y ácidos grasos libres disminuyeron. Este trabajo demuestra que el cambio de caseína por proteína de soja aislada en la dieta mejora significativamente las alteraciones presentes en el modelo.

**PALABRAS CLAVE:** Dislipemia, proteína de soja, caseína, dieta rica en sacarosa.

**SUMMARY:** *Effects of casein substitution by soy protein as protein source in experimental dyslipemia.*

The aim of this study was to analyze in sequential form whether once reached the stable dyslipemia and insulinic resistance in the model of a sucrose-rich diet (SRD), the change of the protein type on the diet can improve dyslipemia and glucose homeostasis. In order to attain this objective, Wistar rats were fed DRS for 4 months and then casein was substituted by isolated soy protein. At the end of the experimental period (8 months), we obtained a significant decrease in corporal weight and energy intake, a normalization of plasmatic triglycerids and cholesterol levels, and hepatic triglycerid level. Thus, hepatic VLDL-Tg secretion decreased and the removal rate of plasmatic triglycerids increased. In the same period, the levels

of glucose and free fatty acids diminished. This work demonstrates that the casein change by isolated soy protein in the diet significantly improves the present

alterations in the model of dyslipemia and insulinic resistance.

**KEYWORDS:** Dyslipemia, soy protein, casein, sucrose-rich diet.

---

## Introducción

En los últimos años se ha observado un incremento importante de las patologías asociadas al síndrome Plurimetabólico, entre ellas obesidad, insulino-resistencia, dislipemia y diabetes tipo 2 (1-2). Debido al aumento de estos desordenes metabólicos que se han instalado en la población, además de los factores genéticos, los factores medioambientales: sedentarismo y cambios en la proporción y/o tipo de macronutrientes (hidratos de carbono, grasas y proteínas), juegan un rol muy importante en la regulación de la homeostasis de la glucemia y los lípidos plasmáticos. Al respecto, en los últimos años, el aumento en el consumo de fructosa dietaria proveniente de la ingesta elevada de sacarosa y de jarabe de alto contenido de fructosa podría estar contribuyendo en el incremento de la prevalencia del Síndrome plurimetabólico en la población (3-8).

Numerosos trabajos a nivel experimental demostraron que ingestas ricas en hidratos de carbono simples (sacarosa y/o fructosa) conducen a insulino resistencia y dislipemia (9-11). Al respecto nuestro grupo (12) ha demostrado que ratas alimentadas a largo plazo (4 – 8 meses) con una dieta rica en sacarosa desarrollan dislipemia, resistencia insulínica periférica global, moderada hiperglucemia y normoinsulinemia, las cuales se acompañan de un ligero incremento del peso corporal e ingesta calorica. Sin embargo los estudios realizados con cambios en la fuente proteica, por ejemplo proteína de

soja, son menos numerosos tanto a nivel experimental como humano (13,14). La proteína de soja aislada contiene además de todos los aminoácidos esenciales en cantidad suficiente para abastecer los requerimientos humanos otras sustancias, entre ellos isoflavonas, minerales, etc, cuya presencia depende de los procedimientos del aislamiento de la proteína (15).

En estudios en animales normales o genéticamente obesos se pudo observar que la sustitución en la dieta de caseína por proteína de soja aislada mejora el perfil lipídico en plasma (16-17), además en ratas obesas (18) o en ratas Wistar normales alimentadas durante 28 días con sacarosa 55% y proteína de soja aislada 22% (19) se observó una mejora en la resistencia insulínica y tolerancia a la glucosa, acompañado también de un mejor control del peso corporal.

En este contexto utilizando el modelo animal de dislipemia e insulino resistencia inducido por administración crónica de dieta rica en sacarosa, el objetivo del presente trabajo es: analizar en forma secuencial si una vez alcanzada la dislipemia y resistencia insulínica estable el cambio del tipo de proteína de la dieta puede mejorar las alteraciones antes mencionadas. Para lograr este objetivo se analizaron algunos parámetros del metabolismo lipídico plasmático y tisular: i) triglicéridos, colesterol, glucosa, ácidos grasos no esterificados plasmáticos y triglicéridos hepáticos. ii) Velocidad de secreción de triglicéridos hepáticos y velocidad de remoción de triglicéridos plasmáticos.

## Materiales y métodos

### Animales y dietas

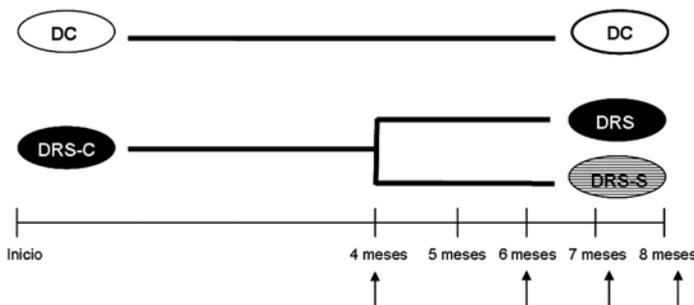
Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar provenientes de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CONEA), Buenos Aires Argentina, con un peso inicial de 180-220 gramos. Durante todo el periodo experimental los animales se mantuvieron en bioterio estandarizado y bajo condiciones controladas de ciclo luz/oscuridad (7:00 – 19:00 hs), temperatura ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y humedad. Luego de una semana de aclimatación los animales fueron divididos aleatoriamente en dos lotes: Lote 1: Dieta control (DC): Almidón 62,5%, caseína 18%, aceite de maíz 7% y Lote 2: Dieta rica en sacarosa (DRS): donde el almidón es reemplazado por sacarosa 62,5%, las cuales fueron administradas por 4 meses de acuerdo al esquema de la Figura 1. Al cabo de este tiempo los animales del lote 2 se subdividieron en 2 sublotos: Sublote 2A continúa con la misma dieta (DRS) y en el Sublote 2B la caseína fue reemplazada por proteína de soja (DRS-S). La proteína de soja aislada utilizada contiene aproximadamente 97 mg de isoflavonas totales por 100 g de proteína comestible (según proveedor). Los animales del Lote 1 continuaron con la DC 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" (20). Las mismas fueron preparadas semanalmente y mantenidas a  $4^\circ\text{C}$  hasta el momento del consumo. Todas proveen aproximadamente 16,05 KJ/g de comida y se administraron ad libitum. Los animales de cada sublote fueron sacrificados secuencialmente a partir de los 4 meses de ingesta como se detalla en la Figura 1.

Durante todo el periodo experimental se determinó la ganancia de peso y la ingesta calórica dos veces por semana. Finalizado el periodo experimental, los animales fueron sacrificados entre las 8:00 y 10:00 hs, excepto se indique lo contrario. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de ética y seguridad de la investigación de la Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral.

### Métodos analíticos

Los animales fueron anestesiados intraperitonealmente con mezcla ketamina/diazepam 0.25 ml/100 g. rata (5 vol. ketamina/3 vol. diazepam). Las muestras de sangre fueron extraídas de la vena cava inferior e inmediatamente centrifugadas a  $4^\circ\text{C}$ . El suero



**Figura 1:** Esquema experimental.

DC: Dieta control, DRS: Dieta rica en sacarosa; DRS-S: Dieta rica en sacarosa – proteína de soja. Las flechas indican los meses de dieta en los cuales se efectuaron los sacrificios.

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

1. La composición de las dietas esta basada en las recomendaciones del Comité ad hoc del "American institute of Nutrition". DC-C: Dieta control – caseína; DRS-C: Dieta rica en sacarosa – caseína; DRS-S: Dieta rica en sacarosa – proteína de soja.

2. Mezcla de vitaminas AIN-93M-MX (g/kg de dieta): Vitamina A (500.000 UI/g) 0.8; Vitamina D3 (400.000 UI/kg) 2.75; Vitamina E (500 UI/g) 15.0; vitamina K 0.075; Biotina 0.020; Vitamina B12 2500; Acido Fólico 0.200; Niacina 3.0; Pantotenato de calcio 1.6; Piridoxina HCl 0.7; Riboflavina 0.6; Tiamina HCl 0.6.

3. 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.

4. Bitartrato

\* La proteína de soja aislada usada en este experimento (MP biochemicals, USA) 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.

Componentes	Dietas					
	DC		DRS		DRS-S*	
	% 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 aislada	-	-	-	-	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 <sup>4</sup>	0,2		0,2		0,2	
Metionina	0,3		0,3		0,3	

obtenido se utilizó inmediatamente o se conservó a -20°C hasta su procesamiento. Las muestras de tejido hepático fueron obtenidas inmediatamente después de la extracción de sangre y congeladas utilizando una pinza de Wollemberger previamente enfriada en nieve carbónica y conservados a la temperatura de N2 líquido hasta su procesamiento.

Los parámetros plasmáticos de triglicéridos, colesterol total, glucosa y ácidos grasos libres fueron determinados por Kits enzimáticos convencionales. En homogeneizados de tejido hepático se cuantificó el contenido de triglicéridos por el método de Laurell (21).

#### *Velocidad de secreción de triglicéridos hepáticos*

La velocidad de secreción de triglicéridos hepáticos (VSTG), se llevó a cabo utilizando la técnica descrita por Otway y col. (22) y utilizada previamente por nuestro grupo (23). Brevemente, ratas ayunadas por 12 – 16 hs, fueron anestesiadas y se canuló la vena yugular. Se extrajo una muestra de sangre basal (a tiempo = 0). Luego, se inyectó por vía endovenosa una solución de Tyloxapol (Triton WR 1339) en solución fisiológica (600mg/kg peso). Se realizan extracciones de sangre de la otra vena yugular a los 60, 90 y 120 minutos luego de la administración del Triton. Las muestras de sangre se conservaron a 4°C hasta finalizar la experiencia. Se cuantificó el contenido de triglicéridos por Kit enzimático convencional. La VSTG fue calculada a partir del incremento de los triglicéridos versus el tiempo siguiendo el procedimiento descrito por Lombardo y col. (24)

#### *Velocidad de remoción de triglicéridos*

La velocidad de remoción de triglicéridos se determinó utilizando la técnica descrita por Lewis y col. (25, 26). Brevemente, ratas ayunadas durante 12-16 hs, fueron anestesiadas y canuladas (vena yugular) y se extrajo una muestra de sangre basal (a tiempo = 0). Luego, a través de la misma cánula se inyectó por vía endovenosa una solución de la emulsión grasa artificial Intralipid® al 10% (v/v) (dosis: 0,1 ml/100 g peso corporal). Utilizando la otra vena yugular, se recolectaron muestras de sangre heparinizadas a los 2, 4, 6, 10, 15, 20 y 30 minutos posteriores a la administración de la emulsión grasa. Las muestras de sangre se conservaron a 4°C durante 2 horas aproximadamente. El suero obtenido, centrifugando la muestra a baja velocidad (~

600 rpm) para evitar la precipitación de la partícula grasa, fue utilizado para medir la velocidad de desaparición del intralipid en el plasma por nefelometría. Los valores fueron ploteados en una escala semi-logarítmica versus el tiempo. La constante de 1° orden  $k_2$ , de eliminación de la partícula grasa de la circulación, se calculó por el método de cuadrados mínimos previamente descriptos (24).

#### **Análisis estadísticos**

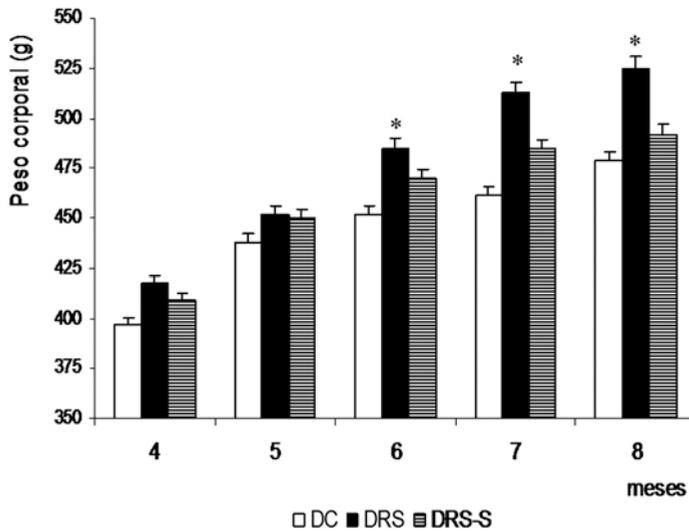
Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM. El estudio estadístico entre grupos se realizó por análisis de varianza de un factor (ANOVA) y posterior test de Newman Keuls, utilizando el programa estadístico SPSS 10.0. Valores de  $p < 0.05$  fueron consideradas estadísticamente significativas (27).

#### **Resultados**

##### *Incremento de peso corporal e ingesta calórica*

Como se puede observar en la Tabla 2 el peso corporal y la ingesta calórica al inicio y a los 4 meses de dieta no muestran diferencias significativas entre las ratas alimentadas con DRS y el grupo control DC. Al final del periodo de experimentación (8 meses), se observa que el grupo DRS muestra diferencias significativas en el peso e ingesta calórica en relación al grupo DC. Al sustituir la caseína por proteína de soja (DRS-S), no se observan diferencias significativas en ambos parámetros con respecto al grupo control.

Si evaluamos las variaciones del peso corporal en función del tiempo de dieta (Figura 2), entre los 4 y 5 meses de dieta no se observan diferencias significativas entre los 3 grupos experimentales. A partir de los seis meses de ingesta y hasta el final de la experiencia, las ratas alimentadas con DRS



**Figura 2:** Pesos corporales en función del periodo experimental en los 4 grupos experimentales. Los valores se expresan como Promedio  $\pm$  SEM (n=6). DC: Dieta control; DRS: Dieta rica en sacarosa; DRS-S: Dieta rica en sacarosa – proteína de soja. \*  $p < 0.05$  DRS vs DRS-S y DC.

**Tabla 2:** Peso corporal, ganancia de peso e ingesta calórica en lotes alimentados con diferentes dietas experimentales. Los valores se expresan como promedio  $\pm$  SEM en al menos 6 animales en cada grupo. Los valores en cada columna con letras supraescritas diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) cuando cada variable es comparada con Anova y post test de Newman Keuls. DC: Dieta control; DRS: Dieta rica en sacarosa; DRS-S: Dieta rica en sacarosa – proteína de soja.

Dieta	Peso Corporal (g)	Peso Corporal (g)	Ingesta calórica (Kj/día)	Peso Corporal (g)	Peso Corporal (g)	Ingesta calórica (Kj/día)
	Inicial	4 meses	0 - 4 meses	4 meses	8 meses	4 - 8 meses
DC	186.6 $\pm$ 4.6 <sup>a</sup>	400.3 $\pm$ 8.1 <sup>a</sup>	265.8 $\pm$ 6.2 <sup>a</sup>	406.8 $\pm$ 10.5 <sup>a</sup>	480.5 $\pm$ 7.3 <sup>b</sup>	265.8 $\pm$ 1.8 <sup>b</sup>
DRS	185.3 $\pm$ 4.4 <sup>a</sup>	415.1 $\pm$ 8.3 <sup>a</sup>	263.7 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup>	415.3 $\pm$ 7.9 <sup>a</sup>	527.2 $\pm$ 8.6 <sup>a</sup>	334.7 $\pm$ 8.4 <sup>a</sup>
DRS-S				408.8 $\pm$ 8.3 <sup>a</sup>	487.9 $\pm$ 7.1 <sup>b</sup>	270.0 $\pm$ 4.8 <sup>b</sup>

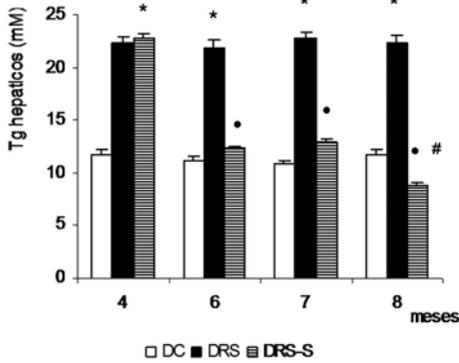
incrementan significativamente su peso corporal respecto del grupo DC. La sustitución de caseína por proteína de soja en la DRS atenúa el incremento de peso corporal, no observándose diferencias significativas con el grupo DC al finalizar la experiencia.

*Cambios secuenciales del contenido de triglicéridos hepáticos y niveles plasmáticos de triglicéridos y colesterol total.*

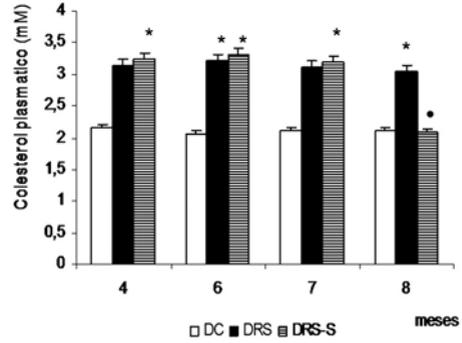
En la Figura 3a analizamos el contenido de triglicéridos hepáticos en función del tiempo de dieta. En los animales alimen-

**Figura 3:** Contenido de triglicéridos hepáticos y niveles plasmáticos de triglicéridos y colesterol total en ratas alimentadas con las dietas experimentales en función del periodo experimental. Los valores se expresan como Promedio ± SEM (n=6).

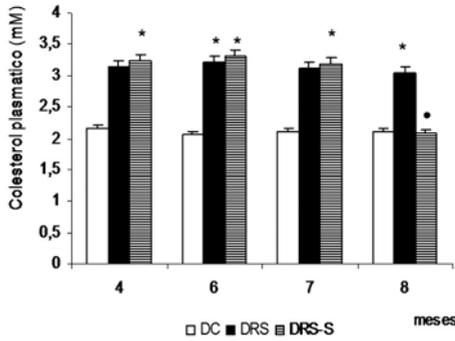
**3a.** Triglicéridos Hepáticos, **3b.** Triglicéridos plasmáticos; y **3c.** Colesterol Total Plasmático  
 DC: Dieta control; DRS: Dieta rica en sacarosa; DRS-S: Dieta rica en sacarosa – proteína de soja.  
 \*  $p < 0.05$  DRS vs DC y DRS-S |  $p < 0.05$  DRS-S vs DRS. | #  $p < 0.05$  DRS-S vs DC



a.



c.



b.

tados con DRS los niveles de triglicéridos hepáticos son significativamente diferentes en todos los períodos analizados respecto del grupo DC. Al sustituir la caseína por proteína de soja en la DRS, se observa un descenso significativo del contenido de triglicéridos hepáticos a partir de los 6 meses alcanzando valores similares a los observados en el grupo DC. Más aún al fi-

nalizar el período experimental se observa una disminución significativa de los niveles de triglicéridos hepáticos con respecto al grupo control.

La Figura 3b muestra los niveles de triglicéridos plasmáticos en los distintos períodos de experimentación. Los animales del grupo DRS presentan diferencias significativas con el grupo DC, en todos los períodos experimentales. Cuando se sustituye la caseína por proteína de soja, los niveles de triglicéridos plasmáticos descienden secuencialmente, y a los 8 meses de dieta alcanzan valores controles, sin diferencia significativa con el grupo DC.

En la Figura 3c se muestran los niveles de colesterol plasmático en función del período experimental, obteniéndose el mismo patrón secuencial que el observado con los niveles de triglicéridos plasmáticos.

**Tabla 3:** Niveles de glucosa y ácidos grasos no esterificados (AGNE) plasmáticos al final del período experimental. Los valores se expresan como Promedio  $\pm$  SEM (n=6). Los valores en cada columna con letras supraescritas diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) cuando cada variable es comparada con el Anova y post test de Newman Keuls.

DC: Dieta control; DRS: Dieta rica en sacarosa; DRS-S: Dieta rica en sacarosa - proteína de Soja.

Dieta	Glucosa (mM)	AGNE (mM)
DC	6.00 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	0.31 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
DRS	8.20 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	0.73 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
DRS-S	6.17 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	0.32 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>

**Tabla 4:** Triglicéridos hepáticos, secreción VLDL – Tg y remoción plasmática de partículas grasas ( $K_2\% \cdot \text{min}^{-1}$ ). Los valores se expresan como Promedio  $\pm$  SEM (n=6). Los valores en cada columna con letras supraescritas diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) cuando cada variable es comparada con Anova y post test de Newman Keuls.

DC: Dieta control; DRS: Dieta control; DRS-S: Dieta control – proteína de soja.

Dieta	Tg Hepáticos (umol/gr TH)	Secreción VLDL-Tg (nmol/min.100g rata)	$K_2\% \cdot \text{min}^{-1}$
DC	12.80 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>	152.8 $\pm$ 6.4 <sup>b</sup>	8.70 $\pm$ 0.90 <sup>a</sup>
DRS	22.35 $\pm$ 1.61 <sup>a</sup>	211.4 $\pm$ 5.1 <sup>a</sup>	4.37 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>
DRS-S	8.81 $\pm$ 0.81 <sup>c</sup>	157.1 $\pm$ 2.6 <sup>b</sup>	8.90 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>

*Niveles de glucosa y ácidos grasos no esterificados plasmáticos (AGNE).*

De acuerdo a los resultados previamente descritos se evaluaron al final del período experimental los niveles de glucosa y AGNE plasmáticos. En la Tabla 3 se observa que los animales alimentados con DRS mostraron valores significativamente mayores en los niveles de glucosa y AGNE cuando se comparan con los animales alimentados con DC. Cuando se sustituye la caseína por proteína de soja (DRS-S) se observa un descenso significativo de ambos parámetros plasmáticos, alcanzando valores semejantes a los observados en el grupo DC.

*Contenido de triglicéridos hepáticos, secreción de VLDL-triglicéridos (VLDL-Tg) y remoción plasmática de partículas grasas.*

Al finalizar el período experimental (Tabla 4), se observa que los animales alimentados con DRS presentan mayor contenido hepático de triglicéridos asociados a una secreción de VLDL-Tg significativamente mayor y a una disminuida remoción de triglicéridos plasmáticos ( $p < 0.05$ ) cuando se los compara con el grupo control. La sustitución de caseína por proteína de soja en la DRS normaliza todos los parámetros antes mencionados.

## Discusión

La administración crónica de una dieta rica en sacarosa (DRS) en ratas normales desarrolla dislipidemia y resistencia insulínica que se mantiene estable al menos durante el período de 4 a 8 meses de ingesta. En el presente trabajo a partir de los 4 meses de administración de la DRS se sustituye por periodos de 1 a 4 meses la fuente proteica dietaria (caseína por proteína de soja aislada) pudiendo demostrarse que: a) los niveles de triglicéridos y colesterol plasmáticos y triglicéridos hepáticos se normalizan al final del período experimental (8 meses). En este tiempo los niveles de AGNE y glucosa son semejantes a los observados en los animales controles. b) La secreción hepática de VLDL-Tg y la remoción plasmática de triglicéridos alcanzan valores similares a los de los animales controles. c) Disminución significativa del peso corporal e ingesta calórica.

En los animales alimentados con DRS y proteína de soja la normalización de los triglicéridos plasmáticos y hepáticos podría ser la consecuencia de una disminución de la síntesis y secreción de VLDL-Tg así como un incremento del clearance de triglicéridos circulantes. Al respecto Iritani y col. (17) observaron en ratas Wistar obesas que la administración de proteína de soja como fuente proteica dietaria durante 3 semanas redujo los niveles de triglicéridos plasmáticos y hepáticos, asociado a una menor actividad y expresión de la enzimas lipogénicas claves (FAS, enzima málica, glucosa 6 fosfato dehidrogenasa). Ascencio y col. (28) demostraron en ratas Wistar normales una disminución en los niveles de colesterol y triglicéridos plasmáticos. En estos animales los triglicéridos hepáticos, la expresión de las enzimas lipogénicas y la proteína de unión al elemento receptor de esteroides,

SREBP-1, también disminuyen cuando la proteína de soja aislada (SUPRO 710, Protein technologies) reemplaza la caseína dietaria durante 150 días (28). Trabajos de Tovar y col. (29) observaron una reducción del contenido de lípidos hepáticos en ratas Zucker fa/fa alimentadas con proteína de soja aislada (SUPRO 710 Protein technologies) durante 160 días. Más aún en estos animales se constató un incremento en la expresión génica de la enzima Carnitina palmitoil transferasa - 1 (CPT-1) y del receptor nuclear activador de proliferación peroxisomal  $\alpha$ , PPAR $\alpha$ , factor que regula la expresión de genes relacionados con la oxidación grasa. Estos hallazgos sugieren que un incremento en la oxidación de ácidos grasos contribuiría a la disminución del contenido de lípidos hepáticos.

La normalización de la dislipidemia podría contribuir a una mayor sensibilidad insulínica. En ratas alimentadas con DRS la moderada hiperglucemia basal fue normalizada cuando se sustituye la fuente proteica caseína por proteína de soja. La relación de las hormonas insulina/glucagon parece jugar un rol importante tanto en la homeostasis de la glucosa como en el metabolismo lipídico, ya que la composición aminoacídica de la proteína de soja es diferente a la caseína, presentando una alta relación arginina/lisina que induce un incremento en los niveles séricos de glucagon (14). Similarmente Lavigne y col. (19) observaron en ratas alimentadas con DRS durante 4 semanas un mejoramiento de la tolerancia a la glucosa y de la sensibilidad insulínica cuando la fuente proteica dietaria es la soja.

Diferentes autores han observado que la administración de proteína de soja disminuye el peso corporal en ratones obesos (para revisión ver 18, 30). Iritani y col. (17) demostraron una menor ganancia de peso

corporal en ratas machos Wistar obesas alimentadas con proteína de soja. Resultados similares se observan en el presente trabajo ya que la ganancia de peso en los animales alimentados con DRS en los cuales la fuente proteica es la soja fue significativamente menor a las ratas alimentadas con caseína.

Por otro lado no podemos dejar de destacar lo observado por varios investigadores (18,31) donde las isoflavonas presentes en la proteína de soja aislada podrían también contribuir a la reversión de la dislipemia y mejoramiento de la homeostasis de la glucosa en animales crónicamente alimentados con DRS.

Finalmente los resultados sugieren que la proteína de soja aislada como fuente dietaria es capaz de revertir la dislipemia y lipotoxicidad hepática en ratas dislipemicas insulínicas resistentes. Si bien los resultados obtenidos no pueden ser extrapolados directamente al humano pueden colaborar en el planteo de políticas alimentarias tendientes a mejorar y/o prevenir el desarrollo de algunas de las patologías asociadas al Síndrome Plurimetabólico que afectan en gran medida a la sociedad actual.

### Agradecimientos

El presente estudio fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT). U.N.Litoral, CONICET, subsidio PICTO 05-35670 BID 1728 OC/AR 2005, PIP N° 5619/2005 and CI+D 11/206.

### Bibliografía

1. Eckel R H.; Grundy S. M.; Zimmet P. Z. 2005. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; **365**: 1415-28.
2. Reaven G. Banting Lecture 1988. Role of insulin-resistance in human disease. *Diabetes* 1988; **37**: 1575-1607.
3. Basciano H; Federico L; Adeli K. 2005. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipemia. *Nutr. Metab.* **2**: 5-16.
4. Feskens E. J.; Virtanen S.M.; Räsänen L.; Tuomilehto J.; Stengård J. Pekkanen J.; Nissinen A.; Kromhout D. 1995. Dietary factors determining diabetes and impaired glucose tolerance. A 20-year follow-up of the Finnish and Dutch cohorts of the Seven Countries Study. *Diabetes Care* **18**, 8: 1104-1112.
5. Johnson R. K.; Fray C. 2001. Choose Beverages and foods to moderate your intake of sugar: The 2000 dietary guidelines for Americans – What's all the fuss about? *J. Nutr.* **131**: 2766S-2771S.
6. Daly M. 2003. Sugars, insulin sensitivity, and postprandial state. *Am. J. Clin. Nutr.* **78**: 865S-872S.
7. Elliot S.; Keim N.; Stern J.; Teff K., Havel P. 2002. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.* **76**: 911-922.
8. Hallfrish J. 1990. Metabolic effects of dietary fructose. *FASEB.* **4**: 2652-2660.
9. Cohen A. M.; Teitelbaum A.; Rosenman E. 1977. Diabetes induced by high fructose diet. *Metabolism* **26**, 1: 17-24.
10. Cohen A. M. 1978. Genetically determined response to different ingested carbohydrates in the production of diabetes. *Horm. Metab. Res.* **10**, 2: 86-92
11. Hallfrish J.; Lazar F.; Reises S. 1979. Effects on feeding sucrose or starch to rats made diabetic with streptozotocin. *J. Nutr.* **109**: 1909-1915.
12. Lombardo Y.B.; 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.
13. Erdman J. W. 2000. Soy Protein and Cardiovascular Disease. A statement for

- healthcare professionals from the Nutrition Committee of the AHA. *Circulation* 2000. 14: 2555-2559.
- 14.** Torres N, Torre-Villalvazo I, Tovar AR. 2006. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. *J. Nutr. Biochem.* **17**(6): 365-373.
- 15.** Erdman JW, Badger TM, Lampe JW, Setchell KDR, Messen M. 2004. Not all soy products are created equal: caution needed in interpretation of Research Results. *J. Nutr.* **134**: 1229S-1233S.
- 16.** Sugano M, Tanaka K, Ide T. 1982. Secretion of cholesterol, triglyceride and Apolipoprotein A-I by isolated Perfused liver from rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixture. *J. Nutr.* **112**: 855-862.
- 17.** Iritani N.; Hosomi H.; Fukuda H.; Tada K.; Ikeda H. 1996. Soybean protein suppresses hepatic lipogenic enzyme gene expression in wistar fatty rats. *J. Nutr.* **126**: 380-388.
- 18.** Velásquez M. T.; Bhathena S. J. 2007. Role of Dietary Soy Protein in Obesity. *Int. J. Med.Sci.* **4**, 2: 72-82.
- 19.** Levigne C, Marette A, Jacques H. 2000. Cod and soy proteins compared with casein improve glucose tolerance and insulin sensitivity in rats. *Am J Physiol Endocrinol. Metab.* **278**: E491-E500.
- 20.** Reeves P. G.; Nielsen F. H.; Fahey G. C. 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.
- 21.** Laurell S. 1966. Method for routine determination of plasma triglyceride. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **18**: 668-672.
- 22.** Otway S.; Robinson D.S. 1967. The use of non-ionic detergent (Triton WR 1339) to determine rates of triglyceride entry into the circulation of the rat under different physiological conditions. *J. Physiol.* **190**: 321-332.
- 23.** Bernal C.; Basílico M. Z.; Gutman R.; Lombardo Y. B. 1989. Secretion and removal rates of very low density lipoprotein triglycerides at the three metabolic periods of hypertriglyceridemia induced by a sucrose rich diet. *Nutr. Rep. Int.* **40**, 1: 71-80.
- 24.** Lombardo Y. B.; Chicco A., D´Alessandro M. E., 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.
- 25.** Lewis B.; Boberg J.; Mancini M.; Carlson L. A. 1972. Determination of the intravenous fat tolerance test with Intralipid<sup>®</sup> by nephelometry. *Atherosclerosis* **15**: 83-86.
- 26.** Bernal, C. Basílico, M. Z.; Gutman R.; Lombardo Y. B. 1989. Secretion and removal rates of very low density lipoprotein triglycerides at the three metabolic periods of hypertriglyceridemia induced by a sucrose rich diet. *Nutr. Rep. Int.* **40**: 71-83.
- 27.** Snedecor, G. W. P; Cochran W. G. 1967. "Statistical methods". Ames, Iowa University Press IA Pp 339-350.
- 28.** Ascencio C.; Torres N.; Isoard-Acosta F.; Gómez-Perez F.J.; Hernandez-Pando R.; Tovar A.R. 2004. Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver in rats. *J. Nutr.* **134**: 522-529.
- 29.** Tovar A.R.; Torre-Villalvazo I; Ochoa M.; Elias A.L.; Ortiz V.; Aguilar-Salinas C.A. et al. 2005. Soy protein reduces hepatic lipotoxicity in hyperinsulinemic obese Zucker fa/fa rats. *J. Lipid. Res.* **46**: 1823-1832.
- 30.** Bhathena S.; Velasquez M. T. 2002. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Review Am. J. Clin. Nutr.* **76**: 1191-1201.
- 31.** Ali A. A.; Velasquez M. T.; Hansen C. T.; Mohamed A. I.; Bhathena S. J. 2004. Effects of soybean isoflavonas, probiotics, and their interactions on lipid metabolism and endocrine system in an animal model of obesity and diabetes. *J. Nutr. Biochem* **15**: 583-590.