

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA EM TRATAMENTO  
DE MODELO ANIMAL DE DESNUTRIÇÃO EM CAMUNDONGOS *Swiss***

**JOÃO PEDRO ANTUNES LOPES**



**João Pedro Antunes Lopes**

**AVALIAÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA EM TRATAMENTO DE  
MODELO ANIMAL DE DESNUTRIÇÃO EM CAMUNDONGOS *Swiss***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial, para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Igor Viana Brandi

Montes Claros

2019

João Pedro Antunes Lopes

AVALIAÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA COMO SUPLEMENTO ALIMENTAR NO TRATAMENTO DE SUBNUTRIÇÃO INFANTIL EM CAMUNDONGOS *Swiss* DESNUTRIDOS

Aprovado pela banca examinadora constituída por:

Francine Alves Souza da Fonseca

Msc. Janaína Ribeiro Oliveira

Prof. Igor Viana Brandi

Profa. Bruna Mara Aparecida de Carvalho

---

Prof. Dr. Igor Viana Brandi

Montes Claros, 25 de novembro de 2019.

Dedico este trabalho à Deus minha maior motivação, fonte de inspiração e essência da minha vida, à toda minha família, aos amigos “intocáveis”, e a todos do GEBIO (Grupo de Estudos em Biotecnologia), em especial Raquel e Janaína, minhas companheiras de trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por estar sempre presente em todas os momentos me mostrando sempre o melhor caminho a ser seguido.

A minha família, pelo incentivo, carinho, apoio, cuidado passados a mim.

Ao professor Igor Viana Brandi pela amizade, conselhos, ensinamentos e oportunidades de crescimento durante todo o curso.

Ao professor Sérgio Henrique de Souza Santos pela disponibilidade em nos co-orientar e nos inspirar no universo da pesquisa.

Aos amigos que a UFMG me presenteou Alécia, Alisson, Ana Carolina, Klinger, Larissa, Maria Helena, Raquel e Vinícius pela amizade e cumplicidade que tornou essa caminhada mais suave.

A todos do grupo GEBIO por todo o comprometimento, cumplicidade e companheirismo.

A Carla Adriana Ferreira Durães por sempre estar dispostas a nos ajudar e orientar.

A Janaína Ribeiro Oliveira por estar do nosso lado durante toda a fase experimental sendo parte fulcral para a realização desse trabalho.

A Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em especial ao Instituto de Ciências Agrárias.

A Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES) e ao Hospital Universitário Clemente de Faria e toda a equipe do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde pela disponibilidade do biotério e laboratório, respectivamente, utilizados para a realização dos experimentos.

Ao PROEXT/MEC, pela bolsa concedida para realização do projeto de extensão.

A todos que me ajudaram na concretização deste trabalho agradeço desde já.

*“Faça o seu melhor, na condição que você tem, enquanto você não tem condições melhores para fazer melhor ainda! ”*

**(Cortella, Mário Sérgio)**

## RESUMO

Objetivou-se a partir deste trabalho avaliar os efeitos de uma bebida láctea fermentada em camundongos *Swiss* submetidos à desnutrição por restrição calórica. Os animais desnutridos foram renutridos com uma bebida láctea fermentada (Grupo controle renutrido e Grupo renutrido) e foi administrado água para o controle desnutrido e desnutrido (Grupo Controle sem tratamento e Grupo desnutrido Sem Tratamento) apenas para proporcionar o mesmo estresse do método da gavagem para todos animais. Após o período de renutrição (sessenta dias) obteve-se a curva glicêmica, que consiste nos testes de tolerância à glicose e sensibilidade à insulina, em seguida os animais foram sacrificados por decapitação, e posteriormente avaliou-se o fígado, os tecidos adiposos e o plasma de cada animal. Para os testes da obtenção da curva glicêmica percebeu-se uma normoglicemia e normoinsulinemia, ou seja, não foi observado alterações no metabolismo dos camundongos. Em relação ao peso corporal, os animais que não consumiram a bebida (Grupo Controle Sem Tratamento e Grupo Desnutrido Sem Tratamento) mantiveram o peso durante todo o experimento, enquanto os animais que consumiram a bebida (Grupo Controle renutrido com Tratamento e Grupo Renutrido com Tratamento) apresentaram um aumento. O tamanho do fígado dos grupos CST e DST foi inferior ao valor encontrado para os grupos CT e RT, respectivamente, e os tecidos adiposos epididimal e mesentérico apresentaram diferença significativa entre os grupos que foram renutridos com a bebida (CT e RT) quando comparados com os grupos que consumiram água (CST e DST). Além disso, pode-se observar nas análises bioquímicas um aumento da glicose, uma tendência do aumento da albumina, principal marcador da desnutrição, e uma diminuição do colesterol para os animais renutridos com a bebida láctea fermentada. Portanto, através dos resultados obtidos é possível inferir que os efeitos da bebida láctea fermentada foram satisfatórios para a renutrição de camundongos.

**Palavras-chave:** Suplemento alimentar, Renutrição, metabolismo

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Desenho experimental de restrição calórica e renutrição em camundongos <i>Swiss</i> .....	18
<b>Figura 2:</b> A) Glicemia durante o teste de tolerância à glicose. B) Área sob a curva Do nível de glicose plasmática.....	19
<b>Figura 3:</b> A) Glicemia durante o teste de sensibilidade à insulina. B) Área sob a curva de glicose.....	20
<b>Figura 4:</b> Avaliação do peso corporal dos camundongos durante o período de renutrição.....	20
<b>Figura 5:</b> Valores obtidos a partir da pesagem do fígado dos animais após ao sacrifício.....	21
<b>Figura 6:</b> Valores obtidos a partir da pesagem dos tecidos adiposos dos camundongos após o sacrifício.....	22
<b>Figura 7:</b> Valores obtidos a partir das análises bioquímicas para quantificação de glicose (A), albumina (B) e colesterol (C).....	23

## **LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS**

**CST:** Grupo controle - dieta padrão sem tratamento da bebida (1,0 mL gua);

**CT:** Grupo controle renutrindo - dieta padrão com tratamento da bebida láctea (1,0 mL bebida láctea);

**DST:** Grupo desnutrido - dieta padrão sem tratamento da bebida (1,0 mL gua);

**RT:** Grupo renutrindo - dieta padrão com tratamento da bebida láctea (1,0 mL bebida láctea);

**TTG:** Testes de tolerância à glicose;

**TSI:** Teste de sensibilidade à insulina;

**TAE:** Tecido adiposo epididimal;

**TAR:** Tecido adiposo retroperitoneal;

**TAME:** Tecido adiposo mesentérico;

**TAS:** Tecido adiposo subcutâneo;

**TAM:** Tecido adiposo marrom.

**g/BW:** gramas/massa corporal (body weight)

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
2.1. Desnutrição infantil .....	12
2.2. Relevância da bebida láctea.....	13
2.3. Alterações metabólicas associadas à desnutrição .....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1. Animais e protocolos de alimentação.....	14
3.2. Grupo controle <i>ad libitum</i> .....	15
3.3. Grupo restrição renutridos e desnutridos.....	16
3.4. Testes de tolerância à glicose e sensibilidade à insulina (TTG e TSI) e sacrifício .....	16
3.5. Peso corporal, fígado e tecidos adiposos .....	16
3.6. Análises bioquímicas .....	17
3.7. Estatística.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	17
4.1. Testes de tolerância à glicose e sensibilidade à insulina .....	17
4.2. Peso corporal, fígado e tecidos adiposos .....	19
4.2. Avaliação das análises bioquímicas .....	22
5. CONCLUSÃO.....	24
6. REFERÊNCIAS .....	25

## 1. INTRODUÇÃO

A desnutrição infantil ainda é um dos principais problemas de saúde pública em vários países em desenvolvimento. (DEHESA-LÓPEZ et al., 2017; GORDON et al., 2013). Cerca de 17 milhões de crianças em todo o mundo sofrem de desnutrição aguda grave (SAM), na qual é definida pelo método WHZ (peso em relação a estatura) em que  $z < -3$  SD ou uma circunferência do braço médio (MUAC)  $< 115$  mm (UNICEF, WHO e WORLD BANK GROUP, 2017).

Além disso, essa patologia é frequentemente relacionada com as altas taxas de morbidade, mortalidade e altos gastos com saúde (DEHESA-LÓPEZ et al., 2017; FREIJER et al., 2013).

Sendo assim, a desnutrição infantil consiste em um grave problema de saúde pública e que normalmente está relacionada às condições socioeconômicas e ambientais, maternas, práticas alimentares infantis, taxa de morbidade e de acesso aos serviços de saúde (UNICEF, 2013). Dessa forma, ela pode ser utilizada como uma ferramenta de avaliação das condições de saúde e qualidade de vida de uma população (MONTEIRO et al., 2010).

Segundo Di Giovanni et al. (2016), o quadro clínico de desnutrição aguda avançada geralmente apresenta sintomas como edema nutricional, distúrbios metabólicos, incluindo hipoalbuminemia e esteatose hepática, perda de pigmentação capilar, lesões cutâneas, e perda severa de peso. Portanto, é importante o desenvolvimento de alimentos que possam complementar a alimentação infantil e contribuir na reversão deste quadro, sendo capazes de fornecer quantidades suficientes de energia, proteínas, gorduras, vitaminas e minerais de forma segura, economicamente acessíveis e agradáveis às crianças (MACHADO, 2007).

Por ser um alimento nutritivo e conter componentes com funções hormonais e imunológicas (CANO et al., 2009), em vários programas de prevenção e tratamento da desnutrição infantil os produtos lácteos têm sido apontados com componentes fundamentais para o sucesso da reabilitação do estado de saúde dos pacientes. Há evidências que baseiam o efeito positivo das proteínas do leite em um crescimento linear de crianças saudáveis e recuperação do crescimento durante o tratamento da desnutrição (SCHERBAUM et al., 2017; MANARY et al., 2016; YACKOBOVITCH-GAVA et al., 2017).

Além disso, bebidas formuladas a base de leite também são interessantes por serem sensorialmente agradáveis(ZULUETA et al., 2007). Visto que, uma das principais disponíveis no mercado são as bebidas lácteas fermentadas, que apresentam características sensoriais semelhantes ao iogurte e baixo custo de produção, já que sua formulação pode ser composta por soro de leite, um co-produto proveniente de indústrias alimentícias no Brasil (CAPITANI et al., 2005).

Diante deste quadro, este experimento teve como objetivo a avaliação dos efeitos metabólicos de uma bebida láctea fermentada em camundongos Swiss submetidos à desnutrição por restrição calórica, assim como a capacidade da bebida láctea em atuar como suplemento alimento no tratamento da desnutrição.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. Desnutrição infantil**

Segundo a Lei Orgânica de Segurança Alimentar e Nutricional, segurança alimentar é a garantia do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade e em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde que respeitem a diversidade cultural e que sejam ambiental, cultural, econômica e socialmente sustentáveis (BRASIL, 2006).

No Brasil, a região com maior taxa de insegurança alimentar é o Nordeste, em que 38,1% das moradias nordestinas apresentam algum tipo de restrição alimentar. A região do Norte também é destaque em relação à altas taxas de desnutrição infantil, uma vez que o maior número de populações indígenas encontra-se nesta região e que são as crianças indígenas que mais sofrem pelo déficit alimentar. Enquanto a desnutrição crônica é 40% para as crianças indígenas, ela é representada em 7% para as outras crianças do país, dessa forma, crianças indígenas apresentam duas vezes mais risco de morrer antes de completar 1 ano do que as outras crianças brasileiras (UNICEF, 2018).

De acordo com as Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), o retardo no crescimento infantil devido à desnutrição atinge cerca de uma a cada cinco crianças menores de cinco anos de idade, implicando na diminuição da capacidade

cognitiva infantil, diminuição do rendimento escolar e morte por infecções (FAO et al., 2017). Assim, torna-se imprescindível a atuação de ações governamentais que apresentem como objetivo a reversão deste quadro da saúde pública (BRASIL, 2018).

## **2.2. Relevância da bebida láctea**

Segundo a Instrução Normativa nº 16 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 23 de agosto de 2005, bebida láctea é definida como o produto obtido a partir de leite ou leite reconstituído e/ou derivados de leite, reconstituídos ou não, fermentado ou não, com ou sem adição de outros ingredientes, onde a base láctea represente pelo menos 51% do total de ingredientes do produto. As bebidas lácteas podem conter em sua formulação, além do soro do leite e dos cultivos de bactérias lácticas, aditivos e produtos de frutas (BRASIL, 2005).

A elaboração tecnológica deste produto consiste na mistura de leite ou iogurte e soro em proporções adequadas, seguida da adição cultura láctica e de outros ingredientes como aromatizantes, corantes, edulcorantes, polpa de frutas e outros ingredientes, que podem variar em relação à formulação desenvolvida pelo produtor (SIVIERI e OLIVEIRA, 2002).

O soro do leite é um coproduto importante para as indústrias de alimentos, por ser produzido em grande volume, 80-90% e conter aproximadamente 55% dos nutrientes do leite (LEITE et al., 2012). As proteínas do soro de leite são importantes para as funções biológicas e suas concentrações podem variar de acordo com a origem do leite (CAO et al., 2018).

Dessa forma, uma alternativa adotada pelas indústrias alimentícias para o reaproveitamento deste coproduto foi utiliza-lo como substituto parcial do leite, como ingrediente de funcionalidade reológica e/ou nutricional para alimentação humana (CASTRO et al., 2009), além da aplicação na elaboração de bebidas, fermentadas ou não.

## **2.3. Alterações metabólicas associadas à desnutrição**

Segundo Dalvi et al., (2018) a desnutrição aguda grave em crianças e em modelos animais foi especificamente associada à deficiência de glicose relacionada à disfunção das células  $\beta$ -pancreáticas. Em um modelo animal de restrição protéica precoce, foi mostrado que a desnutrição leva à esteatose hepática associada à disfunção mitocondrial grave em ratos jovens, ressaltando a gravidade dos distúrbios metabólicos induzidos pela desnutrição.

A desnutrição também pode provocar alterações no fígado, dentre elas destacam-se a diminuição da massa, hipoplasia e atrofia dos hepatócitos, degeneração gordurosa, fibrose, necrose e degeneração hidrópica (FRANÇA et al., 2009; PARRA et al., 1995).

Nos mamíferos, existem dois tipos de tecido adiposo, o branco e o marrom. O branco é capaz de armazenar triacilglicerídeos, podendo alterar acentuadamente seu tamanho (volume e diâmetro) conforme a quantidade acumulada. Enquanto o tecido adiposo marrom é especializado na produção de calor (termogênese) e, portanto, participa ativamente na regulação da temperatura corporal (FONSECA-ALANIZ, et al. 2006).

O tecido adiposo branco é constituído principalmente de adipócitos, embora outros tipos de células sejam fundamentais para o seu crescimento e função, incluindo os pré--adipócitos, macrófagos, linfócitos, fibroblastos e células vasculares. Dessa forma, o acúmulo de macrófagos neste tecido de indivíduos obesos e em modelos animais de obesidade é proporcional à adiposidade, assim como a perda de peso resulta numa redução sustentada no número de macrófagos de tecido adiposo, que é acompanhado por uma diminuição do perfil inflamatório (XU et al. 2003; CANCELLO, et al., 2005).

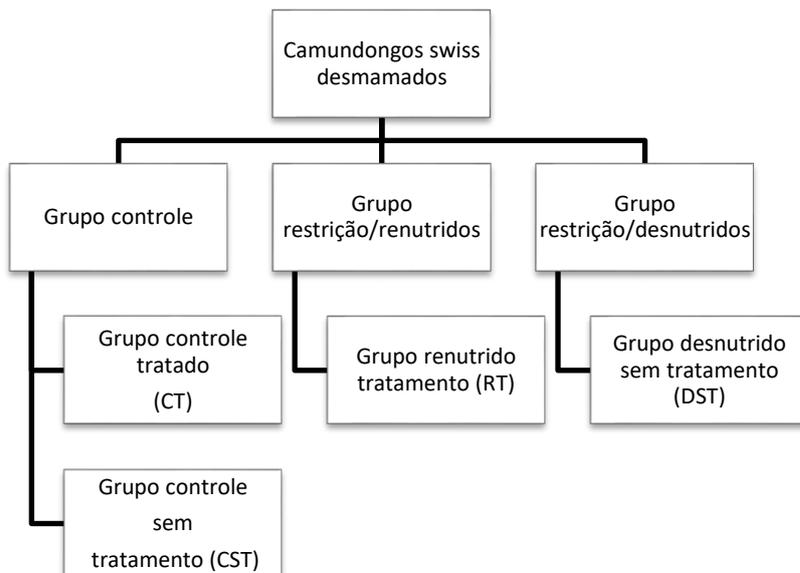
### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Animais e protocolos de alimentação**

O experimento foi realizado utilizando inicialmente 32 (n=8) trinta e dois camundongos machos, da linhagem *Swiss*, com duas semanas de idade, divididos em quatro grupos com oito indivíduos para cada grupo. Porém, devido a morte de alguns indivíduos durante a fase de adaptação, os grupos foram redistribuídos com dois grupos com 4 animais (CST e CT) e dois grupos com 8 animais (RT e DST). Os camundongos foram fornecidos e mantidos no biotério localizado na Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, na cidade de Montes Claros, Minas Gerais. O experimento apresentado foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, correspondendo ao protocolo 377/2015. Dessa forma, os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes institucionais.

A bebida láctea fermentada administrada pelos animais foi fornecida pelo Grupo de Estudos em Biotecnologia (GEBIO) pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, *campus* Montes Claros, sob orientação do professor Dr. Igor Viana Brandi.

Todos os animais foram distribuídos aleatoriamente nas quatro caixas de polipropileno e mantidos em ambiente com temperatura controlada (24°C), com ciclo claro-escuro de 12 horas e receberam água *ad libitum*. Os camundongos foram divididos em quatro grupos, conforme apresentado na Figura 1, os grupos de controle restrição e controle desnutrido (CR e CD) continham quatro animais em cada caixa, enquanto os grupos desnutrido e renutrido (D e R) continham oito animais em cada caixa.



**Figura 1:** Fluxograma de distribuição dos grupos experimentais. Grupo controle sem tratamento (CST): dieta padrão sem tratamento da bebida (1,0 mL água); Grupo controle com tratamento (CT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea (1,0 mL bebida láctea); Grupo desnutrido sem tratamento (DST): dieta padrão sem tratamento da bebida (1,0 mL água) e Grupo renutrido com tratamento (RT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea (1,0 mL bebida láctea).

### 3.2. Grupo controle *ad libitum*

A dieta padrão (Purina - Labina®) utilizada para a manutenção regular de camundongos é composta por 66% de carboidrato, 23% de proteína e 11% de gordura, com um total de 3,95 kcal por 1g de dieta. Esse grupo foi dividido em dois grupos, um recebeu a dosagem de 1 mL de bebida láctea e outro a mesma quantidade de água, todas essas doses foram administrados através de gavagem esofágica, por meio de uma cânula específica para esse procedimento. No grupo controle desnutrido (CD) foi administrado água para que todos os animais fossem submetidos ao estresse do procedimento da gavagem. Os animais foram tratados por sessenta dias, período de renutrição.

### **3.3. Grupo restrição renutridos e desnutridos**

No grupo restrição, os animais foram induzidos à desnutrição durante um período de sessenta dias através do método de restrição calórica de 30% do peso da ração consumida pelo grupo controle para atingir uma perda de peso de 10 a 25% em comparação com o grupo controle (CANO et al., 2009). Durante a renutrição foi administrada bebida láctea para o grupo renutrido (R) e água para o grupo desnutrido (D), ambos através da técnica de gavagem esofágica, por meio de uma cânula específica para esse procedimento, durante um período de sessenta dias, período de renutrição.

### **3.4. Testes de tolerância à glicose e sensibilidade à insulina (TTG e TSI) e sacrifício**

Ao fim do tratamento, testes de testes de tolerância a glicose e sensibilidade a insulina foram realizadas para avaliar o metabolismo da glicose seguindo a metodologia descrita por Pinheiro et al., (2017). Para o teste de tolerância à glicose, a D-glicose (2 mg/g de peso corporal) foi injetada intraperitonealmente nos camundongos em jejum de 12 horas. Os níveis de glicose das amostras de sangue da cauda foram monitorados aos 0, 15, 30, 60 e 120 min após a injeção. Testes de sensibilidade à insulina foram realizados de manhã com os animais em dieta livre (0,75 U / kg de peso corporal). As amostras de sangue da cauda foram colhidas nos momentos 0, 15, 30 e 60 min após a injeção para a medição dos níveis de glicose no sangue.

O sacrifício foi realizado através da técnica de decapitação por guilhotina ao final do experimento, sendo recolhidas amostras de sangue para a utilização do plasma nas análises bioquímicas a serem realizadas.

### **3.5. Peso corporal, fígado e tecidos adiposos**

Os pesos corporais foram mensurados e registrados semanalmente, sendo expressos em gramas, durante todo o experimento. Após o sacrifício, fígado e os tecidos adiposos foram retirados e pesados. Os seus resultados foram expressos em gramas de peso do órgão ou tecido pelo peso corporal (g/peso corporal) (CANO; et al., 2009).

### **3.6. Análises bioquímicas**

Os níveis séricos de glicose, colesterol e albumina foram determinados por espectrofotometria a partir do plasma das amostras de sangue recolhidas e através de um equipamento da Celer Biotecnologia S.A., modelo EE – LEITORA DE MICROPLACAS ELISA. Todas as análises seguiram a metodologia descrita por cada kit da marca Labtest Diagnóstica (PINHEIRO; et al., 2017).

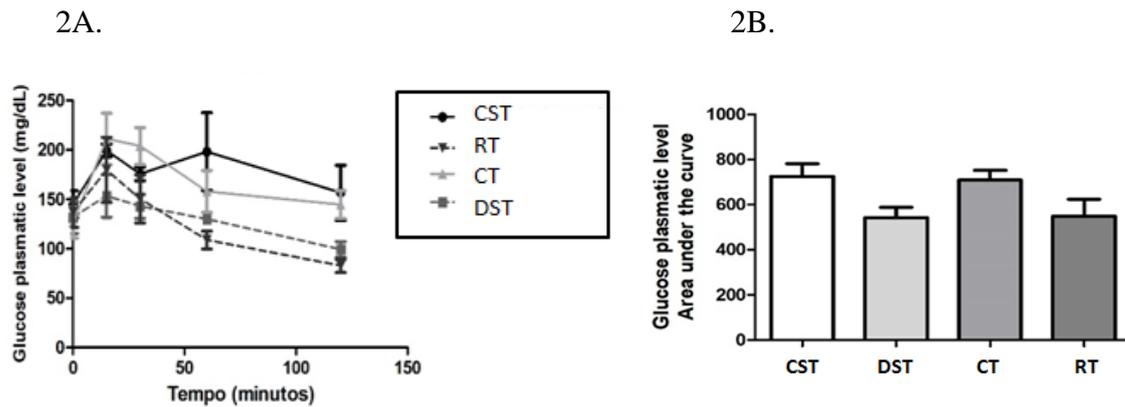
### **3.7. Estatística**

Todos os dados foram transferidos para o software GraphPadPrism (versão 5.0®, San Diego, Califórnia, EUA) e analisados com 95% de confiança ( $p < 0,05$ ). A significância estatística das diferenças nos valores médios entre os grupos de camundongos foi avaliada por One-Way ANOVA seguido por pós-teste de Bonferroni. Para TTG e TSI foram utilizados testes ANOVA Two-Way, seguidos pelo pós-teste de Bonferroni (PINHEIRO; et al., 2017).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Testes de tolerância à glicose e sensibilidade à insulina**

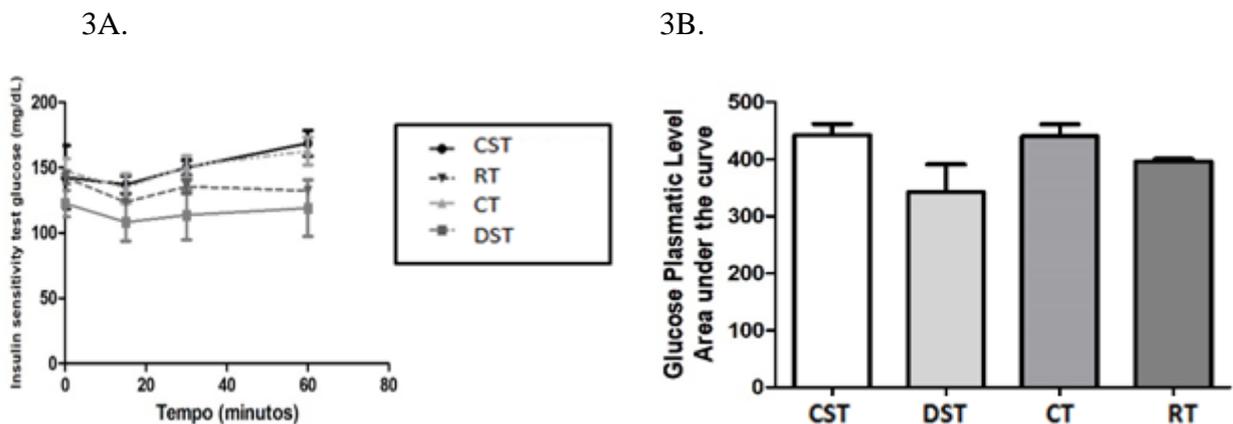
O teste de tolerância à glicose (TTG), consiste em um pico do nível de glicose no sangue seguido de uma redução, pode-se observar na Figura 2A que todos os grupos apresentaram uma normoglicemia e que não houve diferença significativa entre eles no gráfico da área sob a curva de glicose (Figura 2B), o que implica na normalidade da resposta metabólica desses animais para este teste.



**Figura 2:** A) Glicemia durante o teste de tolerância à glicose. B) Área sob a curva Do nível de glicose plasmática. Grupo controle (CST): dieta padrão sem tratamento; Grupo controle renutrido (CT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea; Grupo desnutrido (DST): dieta padrão sem tratamento da bebida e Grupo renutrido (RT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea.

Em relação ao teste de sensibilidade à insulina (TSI) percebe-se que todos os grupos apresentaram um comportamento normal para o nível de glicose, que consiste em uma redução seguida de um aumento no nível de glicose plasmática (Figura 3A), e que não houve diferença significativa na área sob a curva de glicose (Figura 3B).

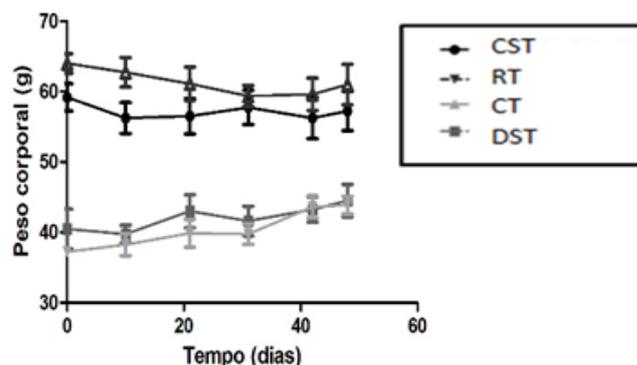
Enquanto, Ferreira et al. (2004) demonstraram que a resposta metabólica para camundongos em uma dieta restritiva resultou em uma hipoinsulinemia e normoglicemia e Badasma et al., (2015), obteve diferença significativa entre o grupo controle e desnutrido para o TTG e não obteve diferença significativa entre esses grupos para o TSI em um estudo em que foram avaliados os ratos desnutridos e ratos saudáveis.



**Figura 3:** A) Glicemia durante o teste de sensibilidade à insulina. B) Área sob a curva de glicose. Grupo controle (CST): dieta padrão sem tratamento; Grupo controle renutrido (CT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea; Grupo desnutrido (DST): dieta padrão sem tratamento da bebida e Grupo renutrido (RT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea.

#### 4.2. Peso corporal, fígado e tecidos adiposos

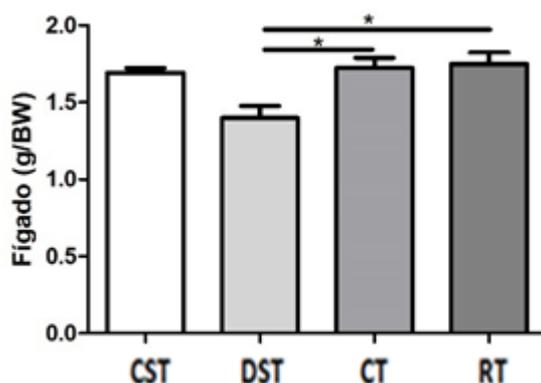
A partir dos resultados dos pesos dos camundongos durante o período de renutrição (Figura 4) pode-se observar que os grupos que não receberam a bebida láctea mantiveram o peso corporal durante todo o experimento, enquanto os grupos que receberam a bebida láctea apresentaram um aumento do peso quando comparado com o peso inicial, principalmente os animais do grupo renutrido (R). Este aumento do peso corporal em camundongos durante um experimento de renutrição também foi demonstrado por GALDEANO et al. (2011) e CANO et al. (2009), que avaliaram, respectivamente, a renutrição de camundongos a partir de um probiótico de leite fermentado e leite de diferentes ruminantes.



**Figura 4:** Avaliação do peso corporal dos camundongos durante o período de renutrição.

Grupo controle (CST): dieta padrão sem tratamento; Grupo controle renutrindo (CT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea; Grupo desnutrido (DST): dieta padrão sem tratamento da bebida e Grupo renutrindo (RT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea.

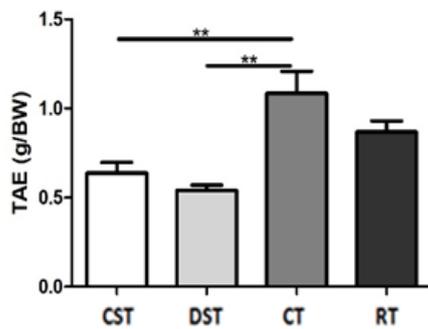
Os valores referentes ao peso do fígado de cada grupo estão representados na Figura 5, sendo que o seu tamanho está diretamente relacionado com o estado nutricional (KIM et al., 2016). A média dos pesos foi de 1,69 gramas, 1,40 gramas, 1,72 gramas e 1,75 gramas para os grupos controle desnutrido (CST), desnutrido (DST), controle renutrindo (CT) e renutrindo (RT), respectivamente, apresentando diferença significativa entre os grupos D/CR e D/R. Enquanto, Gomes (2011), após avaliar a renutrição utilizando o método de ração *ad libitum*, encontrou 3,49 gramas, 1,21 gramas, 3,04 gramas e 4,16 gramas para os grupos controle desnutrido, desnutrido, controle renutrindo e renutrindo, respectivamente. Pode-se observar, então, que estes valores são superiores para os grupos CST, CT e RT e inferior para o grupo DST e que esta diferença entre os valores encontrados pode ter sido influenciada pelo método e duração da etapa de renutrição adotada, que foi inferior (trinta dias) ao tempo aplicado no presente estudo (sessenta dias).



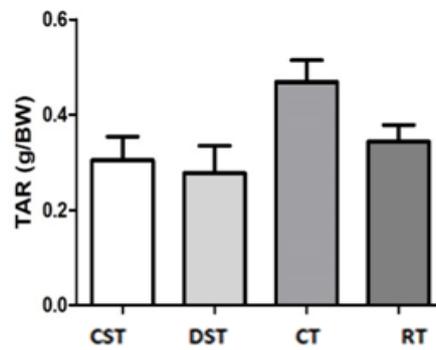
**Figura 5:** Valores obtidos a partir da pesagem do fígado dos animais após o sacrifício. Grupo controle (CST): dieta padrão sem tratamento; Grupo controle renutrindo (CT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea; Grupo desnutrido (DST): dieta padrão sem tratamento da bebida e Grupo renutrindo (RT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea.. \* Valores significativos para  $p < 0,05$ .

Os valores referentes aos pesos dos tecidos adiposos do presente estudo: epididimal (TAE), retroperitonal (TAR), mesentérico (TAME), subcutâneo (TAS) e marrom (TAM) estão representados na Figura 6.

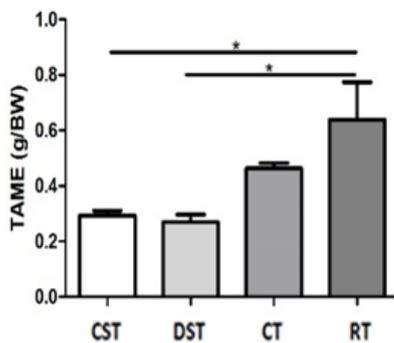
6A.



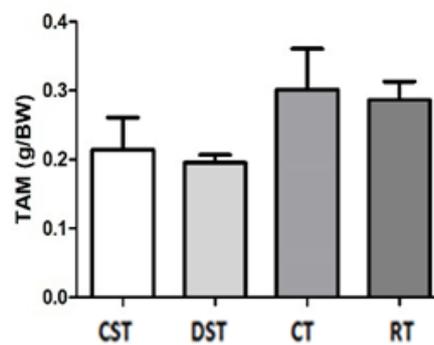
6B.



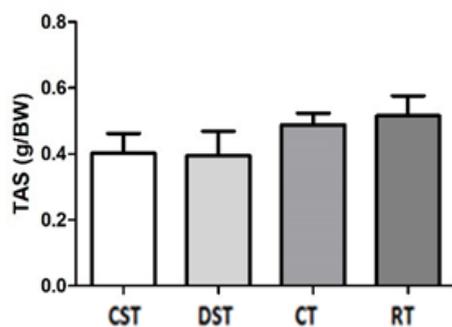
6C.



6D.



6E.



**Figura 6:** Valores obtidos a partir da pesagem dos tecidos adiposos dos camundongos após o sacrifício. Grupo controle (CST): dieta padrão sem tratamento; Grupo controle renutrido (CT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea; Grupo desnutrido (DST): dieta padrão sem tratamento da bebida e Grupo renutrido (RT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea. Tecido adiposo epididimal (TAE), tecido adiposo retroperitoneal (TAR), tecido

adiposo mesentérico (TAME), tecido adiposo subcutâneo (TAS) e tecido adiposo marrom (TAM). \* Valores significativos para  $p < 0,05$ . \*\* Valores significativos para  $p < 0,01$ .

No presente estudo pode-se perceber que houve uma diminuição dos tecidos adiposos para o grupo desnutrido (DST), o que já era esperado devido à restrição alimentar, e um aumento para os grupos que receberam a bebida láctea durante o período de renutrição (CT e RT), contudo houve diferença estatística significativa entre esses grupos apenas para os tecidos adiposos epididimal (TAE – Figura 6A) e mesentérico (TAME – Figura 6C). A literatura evidencia que o aumento da restrição alimentar na dieta padrão proporciona a redução do peso dos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e mesentérico, isto pode estar relacionado à redução progressiva da ingestão alimentar imposta aos animais (DALVI et al., 2018).

A partir destes resultados é possível avaliar o efeito positivo da bebida láctea na renutrição dos animais, pois os valores encontrados para os grupos renutridos (RT) além de serem superiores em relação ao grupo desnutrido (DST), eles também foram superiores ao grupo controle desnutrido (CD), ou seja, a ingestão *ad libitum* da dieta padrão durante todo o experimento não apresentou um aumento tão significativo em relação aos tecidos adiposos como os grupos que ingeriram a bebida láctea. Dessa forma, avaliou-se que a bebida láctea apresentou uma boa eficiência no aumento do peso corporal e dos tecidos adiposos nos camundongos renutridos.

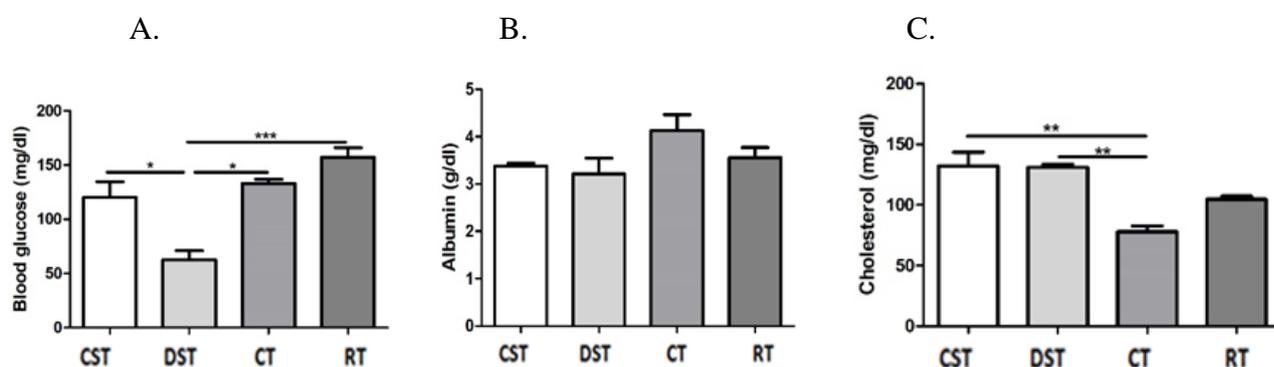
#### **4.2. Avaliação das análises bioquímicas**

Em relação às análises bioquímicas pode-se perceber que os valores de glicose são relativamente altos, exceto para o grupo desnutrido (DST). O aumento do teor de glicose no sangue dos animais já era esperado, principalmente nos grupos que receberam a bebida láctea. O aumento significativo da glicose no sangue também foi obtido por Cano et al. (2009) após a realização da renutrição de camundongos a partir de leite de diferentes ruminantes.

A albumina é um dos principais marcadores da desnutrição e segundo Cuppari e Kamimura (2009) a sua diminuição é proveniente da menor biossíntese hepática, limitada ao substrato proteico restrito em casos de desnutrição. A partir da Figura 7B pode-se perceber que não houve diferença significativa entre os grupos para este marcador, contudo os grupos que

ingeriram a bebida láctea (CT e RT) demonstram que há um tendência no aumento dessa proteína.

A partir dos valores para o colesterol pode-se observar que os camundongos renutrídos com a bebida láctea (CT e RT) apresentaram uma diminuição significativa em relação aos grupos que não receberam a bebida láctea (CST e DST). Um comportamento semelhante à esse também foi relatado por Cano et al. (2009), em que todas as dietas de renutrição à base de leite induziram a diminuição (não significativa) da concentração de colesterol no sangue. Contudo, estudos mais específicos devem ser realizados para avaliar se há uma relação entre a ingestão da bebida láctea com a diminuição do colesterol.



**Figura 7:** Valores obtidos a partir das análises bioquímicas para quantificação de glicose (A), albumina (B) e colesterol (C). Grupo controle (CST): dieta padrão sem tratamento; Grupo controle renutrído (CT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea; Grupo desnutrido (DST): dieta padrão sem tratamento da bebida e Grupo renutrído (RT): dieta padrão com tratamento da bebida láctea. \* Valores significativos para  $p < 0,05$ . \*\* Valores significativos para  $p < 0,01$ . \*\*\* Valores significativos para  $p < 0,001$ .

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através do presente estudo demonstraram que a ingestão da bebida láctea apresentou um efeito satisfatório para a renutrição de camundongos desnutridos. Todos os grupos apresentaram normalidade na resposta metabólica para TTG e TSI. A bebida contribuiu para o aumento do peso corporal dos animais e, conseqüentemente, no aumento significativo para os tecidos adiposos TAE e TAME, além de demonstrarem um aumento significativo do nível de glicose, uma tendência no aumento da albumina, e diminuição significativa para os valores de colesterol. A partir desses resultados torna-se interessante a realização de outros estudos que possibilitem avaliar a relação entre o consumo da bebida láctea com a diminuição do colesterol. Prospecta assim também futuros estudos dos efeitos metabólicos da bebida láctea em crianças desnutridas, com o efeito no tratamento da desnutrição.

## 5. REFERÊNCIAS

BANDSMA, R. H. J., ACKERLEY, C., KOULAJIAN, K., ZHANG, L., VAN ZUTPHEN, T., VAN DIJK, T. H., ... LEWIS, G. F. (2015). *A low-protein diet combined with low-dose endotoxin leads to changes in glucose homeostasis in weanling rats*. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 309(5), E466–E473. doi:10.1152/ajpendo.00090.2015. Acesso em: 16 jun. 2019.

BRASIL. Ministério Da Saúde. **Departamento de Atenção Básica**. Disponível em: <[http://dab.saude.gov.br/portaldab/ape\\_pcan.php?conteudo=desnutricao](http://dab.saude.gov.br/portaldab/ape_pcan.php?conteudo=desnutricao)>. Acesso em: 19 out. 2018.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE: **Guia Alimentar crianças menores de 2 anos**. Normas e manuais técnicos: Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF. Disponível em: <[http://www.lex.com.br/doc\\_411405\\_INSTRUCAO\\_NORMATIVA\\_N\\_16\\_DE\\_23\\_DE\\_AGOSTO\\_DE\\_2005.aspx](http://www.lex.com.br/doc_411405_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_16_DE_23_DE_AGOSTO_DE_2005.aspx)>. Acesso em: 21 nov. 2018.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 11346, de 15 de setembro de 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2007-2010/2010/Decreto/D7272.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2010/Decreto/D7272.htm)>. Acesso em: 21 nov. 2018.

CANCELLO, R.; HENEGAR, C.; VIGUERIE, N.; TALEB, S.; POITOU, C.; ROUAULT, C.; ROUAULT, C.; COUPAYE, M.; PELLOUX, V.; HUGOL, D.; BOUILLOT, J. L.; BOULOUMIÉ, A.; BARBATELLI, G.; CINTI, S.; SVENSSON, P. A.; BARSH, G. S.;

ZUCKER, J. D.; BASDEVANT, A.; LANGIN, D.; CLÉMENT K. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. **Diabetes**, v. 54, n. 8, p. 2277-86, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16046292>>. Acesso em: 27 nov. 2018.

CANO, M. P. G.; NIEUWENHOVE C. V.; CHAILA Z.; BAZÁN C.; GONZÁLEZ S. Effects of short-term mild calorie restriction diet and renutrition with ruminant milks on leptin levels and other metabolic parameters in mice. **Nutrition**, v. 25, n.3, p. 322-329, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19036563>>. Acesso em: 03 nov. 2018.

CAO, X.; YANG, M.; YANG, N.; LIANG, X.; TAO, D.; LIU, B; WU, J.; YUE, X. Characterization and comparison of whey N-glycoproteomes from human and bovine colostrum and mature milks. *Food Chemistry*. **Food Chem.**, v. 276, p. 266-273, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461831759X?via%3Dihub>>. Acesso em: 27 nov. 2018.

CASTRO, F. P. et al. Influence of different content of cheese whey and oligofrutose on the properties of fermented lactic beverages: Study using response surface methodology. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 993–997, 2009.

CUPPARI, L.; KAMIMURA, M. Avaliação nutricional na doença renal crônica: desafios na prática clínica. **J Bras Nefrol**, v. 31, p. 28-35, 2009.

DALVI, P. S., YANG, S., SWAIN, N., KIM, J., SAHA, S., BOURDON, C., Bandsma, R. (2018). Long-term metabolic effects of malnutrition: Liver steatosis and insulin resistance following early-life protein restriction. **PloS one**, 13(7), e0199916. doi:10.1371/journal.pone.0199916. Acesso em: 12 jun. 2019

DI GIOVANNI, V., BOURDON, C., WANG, D. X., SESHADRI, S., SENG, E., VERSLOOT, C. J., BANDSMA, R. H. (2016). Metabolomic Changes in Serum of Children

with Different Clinical Diagnoses of Malnutrition. **The Journal of Nutrition**, 146(12), 2436–2444. doi:10.3945/jn.116.239145. Acesso em: 12 jun. 2019

DEHESA-LÓPEZ, E.; MARTÍNEZ-FELIX, J. I.; RUIZ-RAMOS, A., & ATILANO-CARSI, X. (2017). Discordance between bioelectrical impedance vector analysis and the new ESPEN definition of malnutrition for the diagnosis of hospital malnutrition. **Clinical Nutrition ESPEN**, 18, 44–48. doi:10.1016/j.clnesp.2017.01.006. Acesso em: 12 jun. 2019

FAO; FIDA; OMS; PMA; UNICEF. 2017. **El estado de La seguridad alimentaria y La nutrición en el mundo 2017**. Fomentando La resiliencia en aras de la paz y la seguridad alimentaria. Roma, FAO. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-I7695s.pdf>>. Acesso em: 19 out. 2018.

FREIJER, K; TAN S,S; KOOPMANSCHAP M, A; MEIJERS J, M; HALFENS R, J; NUIJTEN M, J. The economic costs of disease related malnutrition. **Clin Nutr** 2013; 32(1):136e41. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-I7695s.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2019.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 50, n. 2, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v50n2/29305.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2018.

FRANÇA, T.G.D.; ISHIKAWA, L.L.W.; ZORZELLA-PEZAVENTO, S.F.G.; CHIUSO-MINICUCCI, F.; DA CUNHA, M.L.R.S. & SARTORI, A. Impact of malnutrition on immunity and infection. **J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.**, v. 15, n. 3, p. 374-390, 2009.

GALDEANO, C. M.; NÚÑEZ, I. N.; LEBLANC, A. M.; CARMUEGA, E.; WEILL, R.; PERDIGÓN, G. Impact of a probiotic fermented milk in the gut ecosystem and in the systemic immunity using a non-severe protein-energy-malnutrition model in mice. **Gastroenterology**, v.11, n. 64, 2011. Disponível em:

<<https://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-230X-11-64>>. Acesso em: 03 nov. 2018.

GOMES, S. P. **Avaliação estereológica da microestrutura do fígado em animais desnutridos e submetidos à renutrição protéica**. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10132/tde-24092012-140205/pt-br.php>>. Acesso em: 18 nov. 2018.

KIM, S. B., KANG, O. H., LEE, Y. S., HAN, S. H., AHN, Y. S., CHA, S. W., ... KWON, D. Y. (2016). Hepatoprotective Effect and Synergism of Bisdemethoycurcumin against MCD Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice. **PloS one**, *11*(2), e0147745. doi:10.1371/journal.pone.0147745. Acesso em: 16 jun. 2019.

LEITE, M. T; BARROZO, M. A. S.; RIBEIRO, E. J. Canonical Analysis Technique as an Approach to Determine Optimal Conditions for Lactic Acid Production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2012, p. 1-10, 2012. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ijce/2012/303874/>>. Acesso em: 20 nov. 2018.

MACHADO, C. A. A. **Alimentação infantil**: Cartilha de orientação aos pais. Ministério da Saúde. Curitiba. 2007. Disponível em: <[http://189.28.128.100/nutricao/docs/evento/ii\\_forum\\_edu\\_an/alimentacao\\_infantil\\_cristiane\\_machado.pdf](http://189.28.128.100/nutricao/docs/evento/ii_forum_edu_an/alimentacao_infantil_cristiane_machado.pdf)>. Acesso em: 21 nov. 2018.

MANARY M, CALLAGHAN M, SINGH L, et al. (2016) Protein quality and growth in malnourished children. **Food Nutr Bull** 37 ed, S29–S36. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/293636687\\_Protein\\_Quality\\_and\\_Growth\\_in\\_Malnourished\\_Children](https://www.researchgate.net/publication/293636687_Protein_Quality_and_Growth_in_Malnourished_Children)>. Acesso em: 16 jun. 2019.

MONTEIRO, C.A; BENICIO, M. H. D. A.; CONDE, W. L.; KONNO, S.; LOVADINO, A. L.; BARROS, A. J. D.; VICTORA, C. G. Narrowing socioeconomic inequality in child stunting: the Brazilian experience, 1974-2007. **Bull World Health Organ.**, v. 88, n. 4, p.

305-311, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2855601/>>. Acesso em: 19 out. 2018.

PARRA, O. M.; HERNANDEZ-BLASQUEZ, J.; DE SOUSA E SILVA, R.A.; DA SILVA, J.R.; PEDUTO, L.; SOARES, M.M.; SAAD W.A.; SAAD, W.A.Jr. Reduction of liver mass due to malnutrition in rats. Correlation with emaciation of animals and size of organs not inserted in the portal system. **Med J.**, v. 113, n. 3, p. 903-909, 1995.

PINHEIRO, T. A.; BARCALA-JORGE, A. S.; ANDRADE, J. M. O.; FERREIRA, E. C. N.; CRESPO, T. S.; VIEIRA, C. A.; LELIS, D. F.; PARAÍSO, A. F.; PINHEIRO, U. B.; BERTAGNOLLI, M.; ALBUQUERQUE, C. J. B.; GUIMARÃES, A. L. S.; PAULA, A. M. B.; CALDEIRA, A. P., SANTOS, S. H. S. Obesity and malnutrition similarly alter the renin-angiotensin system and inflammation in mice and human adipose. **J Nutr Biochem.**, v. 48, n. 74-82, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28779634>>. Acesso em: 20 nov. 2018.

SCHERBAUM, V., & SROUR, M. L. (2017). *Milk products in the dietary management of childhood undernutrition – a historical review*. **Nutrition Research Reviews**, 31(01), 71–84. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29113618>>. Acesso em: 19 jun. 2019

SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M. N. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com “fat-replaces” (litenesse e dairy-lo). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 24-31, 2002.

UNICEF. **Improving child nutrition: the achievable imperative for global progress**. New York: UNICEF; 2013. Disponível em: <[https://www.unicef.org/publications/files/Nutrition\\_Report\\_final\\_lo\\_res\\_8\\_April.pdf](https://www.unicef.org/publications/files/Nutrition_Report_final_lo_res_8_April.pdf)>. Acesso em: 19 out. 2018.

UNICEF. **Todos juntos pelas crianças**. 2018. Disponível em: <<https://secure.unicef.org.br/campanhas/saude-desnutricao/>>. Acesso em: 19 out. 2018.

UNICEF; WORLD HEALTH ORGANIZATION; WORLD BANK GROUP. (2017). Levels and trends in child malnutrition: **UNICEF - WHO - World Bank Group join child**

**malnutrition estimates (2017 edition)**. Retrieved from Washington, D.C.: Disponível em: <<https://www.who.int/nutgrowthdb/estimates/en/>>. Acesso em: 19 jun. 2019.

XU, H.; BARNES, G. T.; YANG, Q.; TAN, G.; YANG, D.; CHOU, C. J.; et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **The Journal of clinical investigation**, v. 112, n. 12, p. 1821-30, 2003.

YACKOBOVITCH-GAVAN, M.; PHILLIP M & GAT-YABLONSKI G (2017) How milk and its proteins affect growth, bone health, and weight. **Horm Res Paediatr** 88, 63–69. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28253494>>. Acesso em: 19 jun. 2019.

ZULUETA, A. et al. Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. **Food Chemistry**, London, v. 103, p. 1365-1374, 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606008363>>. Acesso em: 20 nov. 2018.