

Efeitos de dietas hipercalóricas na indução de obesidade e esteatose hepática em ratos *wistar*

Effects of hypercaloric diets in the induction of obesity and hepatic steatosis in wistar rats



Kássia Araújo Soares

Discente do Curso de Nutrição do Centro Universitário de Patos de Minas- UNIPAM

Lara Júlia Teixeira Lemos

Discente do Curso de Nutrição do Centro Universitário de Patos de Minas- UNIPAM

Liliane Aparecida Silva

Discente do Curso de Nutrição do Centro Universitário de Patos de Minas- UNIPAM

Maria Luzia da Silva

Discente do Curso de Nutrição do Centro Universitário de Patos de Minas- UNIPAM

Monalysa Martins Rodrigues

Discente do Curso de Nutrição do Centro Universitário de Patos de Minas- UNIPAM

Ana Lúcia da Silva Amaral

Doutora em Alimentos e Nutrição; Docente do Curso de Nutrição do UNIPAM.

RESUMO: Nove ratos *Wistar* foram divididos em três grupos de acordo com a dieta ofertada: Grupo Controle – recebeu dieta padrão (AIN-93G); Grupo Hipercalórico 1 – recebeu dieta composta por 46% de ração, 46% de leite condensado e 8% de óleo de soja; e Grupo Hipercalórico 2 – recebeu dieta contendo 40% de ração, 40% de leite condensado e 20% de sacarose. No decorrer do estudo, verificaram-se peso corporal, ganho de peso e consumo de ração. Após 21 dias de tratamento os ratos foram sacrificados, seus fígados pesados e analisados quanto ao aspecto morfológico. A análise estatística foi realizada no software SigmaStat 4.0. Não foram observadas diferenças significativas quanto ao crescimento ponderal, consumo de ração e peso dos fígados dos grupos estudados. No entanto, o desenvolvimento de esteatose hepática nos roedores alimentados com as dietas hipercalóricas 1 e 2 indica que a ingestão destas ocasionou alterações no metabolismo lipídico.

PALAVRAS-CHAVE: Nutrição Experimental. Obesidade. Ratos *Wistar*.

ABSTRACT: Nine *Wistar* rats were divided into three groups according to the offered diet: Control Group – received standard diet (AIN-93G); Hypercaloric Group 1 – received diet containing 46% of standard chow, 46% of condensed milk and 8% of oil soybean; and Hypercaloric Group 2 – received diet containing 40% of standard chow, 40% of condensed milk and 20% of sucrose. During the study, body weight, weight gain and feed intake were verified. After 21 days of treatment

the rats were sacrificed, their livers were weighed and analyzed according to their morphological appearance. Statistical analysis was performed using SigmaStat 4.0 software. There were no significant differences in weight growth, feed intake and livers weight of the studied groups. However, the development of hepatic steatosis in rodents fed with hypercaloric diets 1 and 2 indicates that their intake caused changes in lipid metabolism.

KEYWORDS: Experimental Nutrition. Obesity. *Wistar* rats.

INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada um dos maiores problemas de saúde pública do mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (2014), até 2025, aproximadamente 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões obesos, em diferentes faixas etárias, estimando-se que, neste mesmo período, cerca de 7,5 milhões de crianças sofrerão com a doença. Já no Brasil, os índices são cada vez mais alarmantes, apontando que 53,8 % da população está com sobrepeso e 18,9% obesos (BRASIL, 2017).

A obesidade é uma doença multifatorial, em que o desequilíbrio energético caracterizado pelo alto consumo de alimentos calóricos associado ao sedentarismo tem sido um dos principais determinantes deste problema. Além disso, a obesidade predispõe o indivíduo a outros problemas de saúde, como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensão arterial, doenças hepáticas e alguns tipos de câncer (SBEM, 2016; FRANCISQUETI, NASCIMENTO, CORRÊA, 2015; FARHAT, IANNOTTI, SIMONS-MORTON, 2010).

O uso de animais de experimentação tem possibilitado o estudo sobre processos metabólicos e patológicos, sobre o efeito da ingestão de alimentos, medicamentos e outras substâncias (TRAMONTE, SANTOS, 2012). Pequenos roedores têm se mostrado excelentes modelos animais para a indução de disfunções fisiológicas devido ao seu curto período de gestação e desenvolvimento, possibilitando a visualização de resultados em diferentes fases de vida (ANDREOLLO *et al.*, 2012; ROSINI, SILVA, MORAES, 2012).

Dietas de cafeterias são constituídas por alimentos palatáveis, ricas em açúcares e/ou gorduras, e têm sido largamente utilizadas na indução de obesidade em modelos experimentais, a fim de simular o perfil de alimentação da população ocidental (ROSINI, SILVA, MORAES, 2012; SAMPEY *et al.*, 2011). O presente trabalho tem como finalidade verificar a influência da ingestão de dietas hipercalóricas do tipo cafeteria no desenvolvimento da obesidade e/ou esteatose hepática.

MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo para o desenvolvimento deste trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA), do Centro Universitário Patos de Minas (UNIPAM). Realizou-se o experimento no biotério do UNIPAM, localizado na Rua Major Gote, nú-

mero 808, bairro Caiçaras, no período de 21 dias. Para a realização deste, foram utilizados 9 ratos *Wistar* divididos em três grupos (n=3), de acordo com a dieta recebida via oral. O Grupo Controle recebeu dieta padrão para o crescimento de ratos (AIN-93G) e dois grupos receberam dietas hipercalóricas, sendo uma composta por 46% de ração, 46% de leite condensado e 8% de óleo de soja (Grupo Hipercalórico 1), e outra com 40% de ração, 40% de leite condensado e 20% de sacarose (Grupo Hipercalórico 2). O quadro abaixo ilustra a composição das dietas experimentais.

QUADRO 1. Composição de macronutrientes das dietas experimentais* (g/100 g de ração)

Macronutrientes (g/100g)	Grupo Controle	Grupo Hipercalórico 1	Grupo Hipercalórico 2
Carboidratos	61,63	54,5	67,22
Proteínas	22,56	12,32	10,86
Lipídeos	15,81	33,18	21,92

* Grupo Controle: recebeu dieta padrão para o crescimento de ratos (AIN-93G); Grupo Hipercalórico 1: dieta composta por 46% de ração, 46% de leite condensado e 8% de óleo de soja; Grupo Hipercalórico 2: dieta contendo 40% de ração, 40% de leite condensado e 20% de sacarose.

Os animais foram mantidos com ingestão de água e ração *ad libitum*, em ambiente com temperatura média de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro com duração de 12 horas cada, acomodados em gaiolas limpas e higienizadas a cada dois dias. Neste período, foram analisados o crescimento ponderal, por meio da pesagem em balança semi-analítica, e o cálculo do ganho de peso e do consumo alimentar. O ganho de peso foi calculado a partir da diferença entre o peso final e inicial dividido pelos dias de experimento e número de animais do grupo. O consumo alimentar baseou-se na diferença do peso da dieta ofertada no dia anterior e suas sobras, considerando o número de animais por grupo.

Ao final do período experimental, após 6 horas de privação de água e de ração, os animais foram submetidos à anestesia e eutanasiados em câmara de dióxido de carbono. Em seguida, o fígado foi coletado e pesado, e seu aspecto morfológico foi verificado por observação macroscópica.

A comparação entre o peso inicial, o peso final, o ganho de peso, o consumo de ração e o peso do fígado dos grupos experimentais foi realizada no software SigmaStat® 4.0, por meio da análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Bonferroni. Todos os resultados foram expressos na forma de média \pm desvio padrão, sendo estabelecido um nível de significância $P < 0,05$.

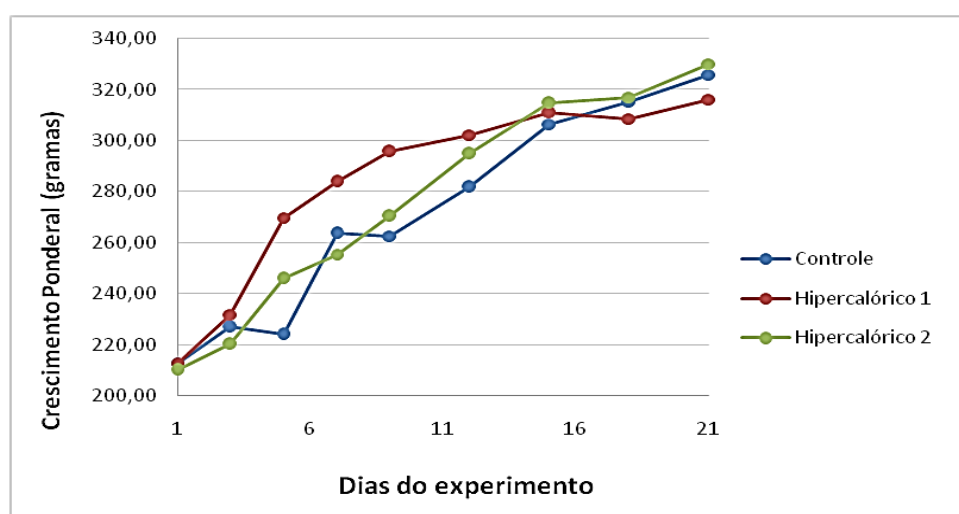
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Existem diferentes delineamentos experimentais da obesidade, contudo, para que o modelo experimental seja o mais próximo possível da gênese da obesidade em

humanos, a indução dessa condição deve ocorrer, preferencialmente, via consumo de alimentos altamente palatáveis e com alto teor energético (ROSINI, SILVA, MORAES, 2012; TRAMONTE, SANTOS, 2012; VON DIEMEN, TRINDADE, TRINDADE, 2006).

O crescimento ponderal dos grupos estudados pode ser observado na Figura 1, entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre eles.

FIGURA 1. Crescimento ponderal dos grupos de animais durante os 21 dias de experimento. Grupo Controle: recebeu dieta padrão para o crescimento de ratos (AIN-93G); Grupo Hipercalórico 1: dieta composta por 46% de ração, 46% de leite condensado e 8% de óleo de soja; Grupo Hipercalórico 2: dieta contendo 40% de ração, 40% de leite condensado e 20% de sacarose.



Estudos têm mostrado que o consumo contínuo de dietas enriquecidas com gorduras e sacarose por períodos de 3 dias a 12 semanas são capazes de aumentar os níveis plasmáticos de triglicérides. Entretanto, em alguns casos, a ingestão dessas dietas não contribui para o aumento do peso dos animais (NADERALI et al., 2001; NADERALI, WILLIAMS, 2003; BURNEIKO et al., 2006; ZAMBON et al., 2009). Esta situação foi confirmada por Almeida *et al.* (2015), ao usarem dieta hipercalórica semelhante à do grupo Hipercalórico 1 deste estudo, porém, sendo a fonte lipídica o óleo de milho. Eles observaram diferença estatística entre o grupo que recebeu dieta de cafeteria e o grupo controle alimentado com dieta padrão em um período de 8 semanas, sugerindo que a duração do experimento também pode influenciar no resultado.

Outra questão a ser considerada é que, diferentemente dos humanos, a origem da obesidade em cobaias de laboratório está relacionada a modificações genéticas, de forma que, dependendo do gene modificado, os animais podem desenvolver obesidade precoce ou tardia e ainda manifestações clínicas de patologias associadas à obesidade como a resistência à insulina, diabetes *mellitus*, hipercolesterolemia, hipertensão arterial e esteatose hepática (ROSINI, SILVA, MORAES, 2012).

Na Tabela 1 pode-se observar o ganho de peso e o consumo alimentar dos animais, porém estes parâmetros não apresentaram diferença estatística. Este fato pode ser

justificado, já que a composição das dietas de cafeteria pode gerar maior saciedade nos animais, fazendo com que estes consumam quantidade de ração igual ou menor que o grupo controle, o que não influencia assim no ganho de peso (ALMEIDA et al., 2015).

TABELA 1. Pesos inicial e final, ganho de peso, consumo alimentar e peso do fígado dos modelos experimentais*

	Controle	Hipercalórico 1	Hipercalórico 2
Peso inicial (g/rato)	212,67 ± 12,01	221,67 ± 10,78	210 ± 7,0
Peso final (g/rato)	315,32 ± 11,45	330 ± 14,18	330 ± 14,20
Ganho de peso (g/rato/dia)	4,90	5,59	5,71
Consumo alimentar (g/rato/dia)	18,85 ± 4,93	17,55 ± 6,72	21,64 ± 5,65
Peso do fígado (g/rato)	13,57 ± 2,55	15,5 ± 1,70	14,73 ± 1,72

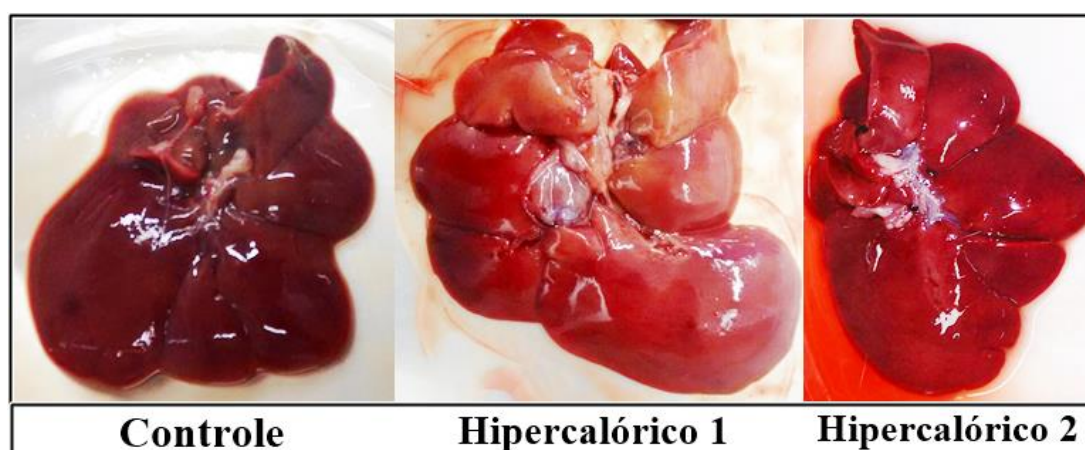
*Valores descritos na forma de média ± desvio padrão. Análise estatística realizada no software SigmaStat® 4.0, considerando $p < 0,05$. Grupo Controle: recebeu dieta padrão para o crescimento de ratos (AIN-93G); Grupo Hipercalórico 1: dieta composta por 46% de ração, 46% de leite condensado e 8% de óleo de soja; Grupo Hipercalórico 2: dieta contendo 40% de ração, 40% de leite condensado e 20% de sacarose.

Kanazawa *et al.* (2003) examinaram os efeitos da ingestão de uma dieta acrescida de 60% de sacarose no ganho de peso corporal, nos níveis plasmáticos de triglicerídeos e na tolerância ao stress de animais durante 2 semanas, mas, assim como no presente estudo, não verificaram ganho de peso corporal no grupo experimental quando comparado ao grupo controle. Resultado diferente foi observado por Naderali, Fatani e Williams (2004), ao ofertar dieta de cafeteria constituída por 33% de ração, 33% de leite condensado, 7% de sacarina e 27% de água durante 15 semanas a um grupo de ratos *Wistars* adultos jovens: segundo os autores, houve um aumento de ganho de peso médio de 110 gramas em relação ao grupo controle. Marques *et al.* (2015) investigaram a influência da ingestão de dietas de cafeteria e o ganho de peso corporal e sugeriram que um período mínimo de 8 semanas seria o ideal para a visualização de resultados significativos, sugerindo mais uma vez que a ingestão de dietas hipercalóricas por períodos curtos não é suficiente para alterar a composição corporal desses animais.

A mudança na morfologia dos fígados dos grupos experimentais pode ser observada na Figura 2. Apesar de não haver diferença estatística entre os pesos dos fígados dos grupos estudados, percebeu-se uma leve coloração amarelada nos grupos experimentais 1 e 2, que pode estar associada ao maior teor lipídico das rações utilizadas. Segundo Almeida *et al.* (2015), animais que receberam dietas hipercalóricas, associadas a refeições do tipo *fast food*, tendem a demonstrar alterações no metabolismo lipídico, mesmo sem o aumento de peso corporal. Esses autores demonstraram ainda que grupos experimentais tratados com dieta hipercalórica controle (46% de ração comercial acrescida de 8% de óleo de milho e 46% de leite condensado) e dieta hipercalórica teste (37,5% de ração comercial acrescidos de 25% de chocolate ao leite e 12,5% de biscoito de maizena) não tiveram diferenças estatísticas quanto ao teor de água corporal e hepática dos

lipídeos totais e do índice de massa corporal, porém, perceberam um acúmulo de lipídeos hepáticos nos grupos que receberam estas dietas de cafeteria, assim como observado no presente trabalho.

FIGURA 2. Comparação do desenvolvimento de esteatose hepática nos grupos estudados. Grupo Controle: recebeu dieta padrão para o crescimento de ratos (AIN-93G); Grupo Hipercalórico 1: dieta composta por 46% de ração, 46% de leite condensado e 8% de óleo de soja; Grupo Hipercalórico 2: dieta contendo 40% de ração, 40% de leite condensado e 20% de sacarose.



A mudança na coloração dos fígados caracteriza o início de um quadro de esteatose, decorrente do acúmulo de gordura no órgão, principalmente de triglicerídeos, atingindo 5 a 10% do peso total do órgão (ANGULO, 2002). Moura *et al.* (2012), ao acrescentar 35% de lipídeos à ração padrão de ratos *wistars*, perceberam, ao final de 60 dias, o aumento do ganho de peso e o desenvolvimento de resistência à insulina e esteatose hepática. Estudos sugerem que, para indução efetiva dessa patologia, o tempo do experimento deve ser levado em conta, além disso, dietas hiperlipídicas têm se mostrado mais eficazes na indução da esteatose em relação a dietas normolipídicas (BORBA *et al.*, 2011).

CONCLUSÃO

Ao se utilizar dietas de cafeterias em experimentos animais, espera-se que estas afetem diretamente o organismo do animal. Porém, este trabalho mostrou que 21 dias de ingestão de dietas de cafeteria não foram suficientes para influenciar no peso final, no ganho de peso e no consumo de ração, mas foi capaz de iniciar um acúmulo de lipídeos no fígado dos Grupos Hipercalóricos 1 e 2, caracterizando um quadro de esteatose hepática. Por isso, sugere-se que, em um próximo estudo, o tempo de experimento seja aumentado a fim de possibilitar uma melhor visualização dos efeitos das dietas hipercalóricas no organismo dos animais.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. E. F. *et al.* Dieta de cafeteria com chocolate, amendoim e biscoito: eficácia na indução do excesso de peso e da dislipidemia em ratos. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 19(3): 15-24, set./dez. 2015.
- ANDREOLLO, N. A. *et al.* Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? *ABCD – Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 25(1): 49-51, 2012.
- ANGULO, P. Nonalcoholic fatty liver disease. *The New England Journal of Medicine*, 18 (346, supl.16): 1221-1231, abr. 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. *Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2016 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 160p.*
- BORBA, A. J. *et al.* Dieta hiperlipídico-proteica utilizada para emagrecimento induz obesidade em ratos. *Revista de Nutrição*, 24(4): 519-528, jul./ago. 2011.
- BURNEIKO, R. C. *et al.* Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidativestress and antioxidant defenses. *Food and Chemical Toxicology*, 44(7): 1167-72, 2006.
- FARHAT T., IANNOTTI, R. J.; SIMONS-MORTON, B. G. Overweight, obesity, youth, and health-risk behaviors. *American Journal of Preventive Medicine*, 38(3): 258-67, 2010.
- FRANCISQUETI, F. V.; NASCIMENTO, A. F.; CORRÊA, C. R. Obesidade, inflamação e complicações metabólicas. *Nutrire*, 40(1): 81-89, abril 2015.
- KANAZAWA, M. *et al.* Effects of a high-sucrose diet on body weight, plasma triglycerides, and stress tolerance. *Nutrition Reviews*, 61 (5 Pt 2): S27-33, maip 2003.
- MARQUES, A. C. R. *et al.* Influência das dietas hipercalóricas sobre os parâmetros de obesidade, dislipidemia e hiperglicemia em ratos. *Revista Saúde e Pesquisa*, 8(1): 55-62, jan./abr. 2015.
- MOURA L. P. Alterações bioquímicas e hepáticas em ratos submetidos à uma dieta hiperlipídica/hiperenergética. *Revista de Nutrição*, 25(6): 685-693, nov./dez, 2012.

NADERALI, E. K. *et al.* Dietary obesity in the rat induces endothelial dysfunction without causing insulin resistance: a possible role for triacylglycerols. *Clinical Science*, 101(5): 499-506, 2001.

NADERALI, E. K.; WILLIAMS G. Prolonged endothelial-dependent and -independent arterial dysfunction induced in the rat by short-term feeding with a high-fat, high-sucrose diet. *Atherosclerosis*, 166(2): 253-259, 2003.

NADERALI, E. K.; FATANI, S.; WILLIAMS, G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. *Atherosclerosis*, 172(1): 63-69, Jan 2004.

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

SAMPEY, B. P. *et al.* Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity*, 19 (2011): 1109–1117.

SBEM, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. *A síndrome metabólica*. Humaitá. 2016. Disponível em <<http://www.endocrino.org.br/a-sindrome-metabolica/>>. Acesso em 17 de setembro de 2016.

TRAMONTE, V. L. C. G.; SANTOS, R. A. *Nutrição e Metabolismo: Nutrição Experimental*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

VON DIEMEN, V., TRINDADE, E. N.; TRINDADE, M. R. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, 21(6): 425-429, nov./dez. 2006.

ZAMBON L. *et al.* Efeitos de dois tipos de treinamento de natação sobre a adiposidade e o perfil lipídico de ratos obesos exógenos. *Revista de Nutrição*, 22(5): 707-15, 2009.