

Ganho de peso e alterações metabólicas em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica

Weight gain and metabolic changes in mice submitted to high fat diet

Juliana Lopes Pereira^a, Priscilla Cristovam Sampaio e Souza^a, Vivian Izumi Shinzato^a, Sandramara Sasso^b, Bruna Larissa Spontoni do Espírito Santo^b, Lidiani Figueiredo Santana^b, Tamy Ingrid Restel^c, Karine de Cássia Freitas^d

^a Acadêmica do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

^b Nutricionista. Mestre em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

^c Bióloga. Mestre em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Técnica do Biotério Central. Instituto de Biotecnologia. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

^d Nutricionista. Doutora em Ciências. Docente na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a eficiência da dieta hiperlipídica na indução da obesidade e nas alterações do metabolismo da glicose e dos lipídeos, em camundongos C57BL/6.

Materiais e Métodos: Utilizou-se 19 camundongos C57BL/6, divididos em grupo controle (dieta comercial; n=9) e experimental (dieta hiperlipídica; n=10). Foi mensurado o consumo de ração e ganho de peso durante 12 semanas, e calculado o Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) e Índice Aterogênico. Foi realizado o Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG), e construída a curva glicêmica, sendo verificada a área sobre a curva (AUC). Foram dissecados o fígado e os sítios de tecido adiposo (TA), feita análise histológica do fígado e TA epididimal, calculado o Índice de Adiposidade (IA%) e mensurada a concentração do colesterol total e frações, glicose e triglicerídeos séricos.

Resultados: O grupo experimental apresentou menor consumo de ração ($p < 0,001$) e maior ganho de peso total ($p = 0,001$) e CEA ($p < 0,001$). Observou-se aumento no TA epididimal ($p < 0,001$), retroperitoneal ($p < 0,001$), mesentérico ($p = 0,002$) e perirrenal ($p = 0,012$), gordura total ($p < 0,001$) e IA% ($p < 0,001$) no grupo experimental. O colesterol total foi maior no grupo experimental ($p = 0,025$) e o HDL menor no controle ($p = 0,005$). A área dos adipócitos do grupo experimental foi maior que do controle ($p = 0,049$). Nos demais parâmetros não houve diferença significativa entre os grupos.

Conclusão: Este modelo induziu a obesidade em um curto período de tempo e promoveu aumento da adiposidade visceral, com dieta de baixo custo. São necessários outros estudos visando melhorar sua eficiência e alterar de forma completa os lipídeos sanguíneos e a glicemia nos camundongos C57BL/6.

Palavras-chave: modelos animais; obesidade; transtornos do metabolismo da glicose; transtornos do metabolismo dos lipídeos.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate the efficiency of high fat diet in the induction of obesity and glucose and lipid metabolism disorders in C57BL/6 mice.

Materials and Methods: Animals were organized into two groups, totalizing 19 C57BL/6 mice: control group (commercial diet; n=9) and experimental group (high fat diet; n=10). Food intake and weight gain were measured during 12 weeks and Food Efficiency Coefficient (FEC) and Atherogenic Index were calculated. The Oral Glucose Tolerance Test (TOTG) was performed, the glycemic curve was constructed and the area under the curve (AUC) was verified. Liver and adipose tissue (AT) sites were dissected and histological analysis of the liver and epididymal adipose tissue were performed. The Adiposity Index (AI%) was calculated and the concentration of total cholesterol, its fractions, glucose and serum triglycerides were measured.

Results: The experimental group presented lower food intake ($p < 0.001$) and higher total weight gain ($p = 0.001$) and FEC ($p < 0.001$). It was observed in the experimental group an increase in the epididymal ($p < 0.001$), retroperitoneal ($p < 0.001$), mesenteric ($p = 0.002$), perirenal AT ($p = 0.012$), total fat ($p < 0.001$) and AI% ($p < 0.001$). Total cholesterol was higher in the experimental group ($p = 0.025$) and the HDL lower in the control group ($p = 0.005$). The adipocyte area of the experimental group was also higher than the control group ($p = 0.049$). In the other parameters there was no significant difference between groups.

Conclusion: This model induced obesity in a short period of time and promoted increased visceral adiposity with a low-cost diet. Further studies are needed to improve its efficiency and to completely change blood lipids and glycemia in C57BL/6 mice.

Keywords: models animal; obesity; glucose metabolism disorders; lipid metabolism disorders.

Correspondência:

KARINE DE CÁSSIA FREITAS
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
Av. Costa e Silva, s/n. – Cidade Universitária
79070-900 Campo Grande, MS, Brasil
E-mail: kcfreitas@gmail.com

Recebido em 17/08/2017, aceito em 05/01/2018



Exceto onde especificado diferentemente, a matéria publicada neste periódico é licenciada sob forma de uma licença Creative Commons BY-NC 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

INTRODUÇÃO

A obesidade consiste em uma doença crônica, ocasionada por diversos fatores etiológicos que favorecem o aumento excessivo de tecido adiposo no organismo¹. O acúmulo de gordura, principalmente na região abdominal, é determinante para o risco de desenvolvimento de diversas patologias, como hipertensão arterial, dislipidemias, resistência à insulina, diabetes mellitus e síndrome metabólica². O estilo de vida atual, onde há facilidade de acesso e baixo custo de alimentos palatáveis e com grande densidade calórica e um baixo nível de atividade física diária, tem sido apontado como o principal responsável pelo aumento da prevalência dessa patologia³. Dados da vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas não transmissíveis obtidos por inquérito telefônico (VIGITEL), demonstraram que entre as capitais brasileiras o percentual de adultos obesos aumentou de 11,8% em 2006 para 18,9% em 2015⁴.

Para melhor entender a fisiopatologia da obesidade e suas complicações metabólicas tornou-se necessário o uso de modelos experimentais que visam determinar de maneira controlada a contribuição e a relação de cada um dos componentes dessa disfunção e fornecer subsídios para sua prevenção e/ou tratamento⁵. Os diferentes modelos experimentais que buscam induzir em animais a obesidade de forma semelhante à humana podem ser classificados, em sua maioria, em modelos genéticos e induzidos por dieta⁵. Contudo, são raras as causas genéticas como fatores etiológicos da obesidade humana⁶.

O modelo que mais se assemelha à patogênese da obesidade humana é o induzido por dieta, onde se oferece ao animal um aporte calórico maior, através da sobrecarga de carboidratos ou lipídeos. Na maioria dos estudos é utilizada a ração padrão AIN-93⁷, de alto custo, à qual se acrescenta alimentos hipercalóricos, como o leite condensado, sacarose, chocolate, amendoim e biscoito⁸, o que encarece ainda mais os custos com o experimento. Porém, na prática experimental, ainda assim, muitos desses modelos são limitados, visto que pode ocorrer baixa aceitação da dieta pelos animais, ausência de obesidade abdominal e alterações no metabolismo da glicose e dos lipídeos sanguíneos⁹, com grande variação no tempo necessário para indução das alterações desejadas^{5,10}. Ao mesmo tempo, ainda são amplamente discutidas na literatura as respostas metabólicas ocasionadas pelo consumo de dieta hiperlipídica¹¹.

Assim, este estudo teve por objetivo avaliar a eficiência de uma dieta hiperlipídica de baixo custo na indução da obesidade e dos transtornos metabólicos supracitados, em camundongos da linhagem isogênica C57BL/6.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 19 camundongos da linhagem isogênica C57BL/6, machos, saudáveis, com 8-10 semanas de vida, obtidos do Biotério Central da UFMS. Os animais permaneceram em adaptação ao ambiente de ensaio por cinco dias e após esse período foram divididos em dois grupos: controle com 9 animais, que receberam dieta comercial (Ração Nuvilab[®]), e experimental com 10 animais, que receberam dieta hiperlipídica (Ração Nuvilab[®] + banha de porco)¹⁰, e água *ad libitum* durante 12 semanas, e foram mantidos em caixas para criação de roedores contendo 2-3 animais, sob temperatura de 22±2°C, com ciclo claro-escuro de 12 h.

A dieta hiperlipídica foi elaborada através da mistura da Ração Nuvilab[®] triturada (62%) à banha de porco, da marca Sadia[®], adquirida no comércio local (38%). Com base no rótulo dos ingredientes, a mesma constituiu-se de 60,3% de lipídeos, 30,60% de carboidratos e 9,10% de proteínas, enquanto a ração comercial apresentou 8,57% de lipídeos, 70,48% de carboidratos e 20,95% de proteínas.

A cada dois dias eram colocados 100 gramas de ração da dieta comercial ou hiperlipídica em cada caixa e o consumo individual diário dos animais era obtido pela média do consumo (descontado sobre a ração) durante os dois dias, dividido pelo número de animais por caixa. O peso dos animais foi aferido semanalmente. A partir desses dados foi calculado o ganho de peso semanal e o Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), por meio da equação: CEA = ganho de peso (g) semanal/consumo alimentar (g) semanal¹².

Ao final das 12 semanas, foi realizado o Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG)¹³. Oito horas antes do teste, os animais foram colocados em jejum. No início do teste foi retirada uma amostra de sangue a partir de uma incisão na cauda dos animais e o valor obtido foi o T0 (tempo zero). Subsequentemente, uma solução de D-glicose (2 g/kg de peso) foi administrada oralmente por gavagem. Posteriormente, a leitura da glicemia foi realizada nos tempos 15, 30, 60 e 120 min após a aplicação da glicose. As dosagens da glicemia foram realizadas utilizando o glicosímetro Sens II (Injex[®]), de acordo com as especificações do fabricante. A partir do TOTG foi construída a curva glicêmica e verificada a área sobre a curva (AUC), no software *GraphPad Prism*.

Três dias após o TOTG e jejum de 12 horas, os animais foram submetidos à eutanásia. Os animais foram anestesiados com xilazina e quetamina (10 mg/kg:75 mg/kg) e o sangue retro-orbital foi retirado através de um capilar e recolhido em um tubo com gel separador de soro. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos e o soro armazenado para posterior análises. Os animais foram

colocados em câmara de CO₂ para confirmação da eutanásia. Quando não havia mais a presença de reflexos, os animais foram abertos para a retirada dos cinco sítios de tecido adiposo (epididimal, omental, mesentérico, retroperitoneal e perirrenal), que foram pesados, assim como o fígado. Foi calculado o Índice de Adiposidade (%), utilizando a seguinte fórmula: gordura total/peso corporal final¹⁴.

Para análise histológica foi retirada uma amostra do fígado e do tecido adiposo epididimal, as quais foram guardadas em cassetes e colocadas em uma solução de formol a 10%. Após a fixação em líquido de Bouin, os espécimes foram desidratados em baterias de álcool etílico, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina, cortados em micrótomo com espessura de 5µm e corados com Hematoxilina-Eosina¹⁵. As imagens das lâminas foram capturadas utilizando o sistema de câmera digital Leica DFC 495, integrado ao microscópio Leica DM5500 B, em aumento de 20x. Os campos histológicos de fígado foram analisados quanto à presença de esteatose hepática por um sistema teste composto por 36 pontos, no programa STEPanizer, o qual é utilizado para estimar a densidade de volume (Vv) de esteatose hepática não alcoólica, a partir da contagem de pontos que tocavam as gotículas de gordura nos hepatócitos: $Vv = Pp/Pt$, onde Pp é o número de pontos que se sobrepõem a esteatose e Pt é o número de pontos totais do sistema (36 pontos)^{16,17}. Para área dos adipócitos, foram selecionados campos representativos no corte histológico, onde se mediu a área de 100 adipócitos por amostra utilizando-se o software Image Pro Plus, e o resultado final representa a média da área desses 100 adipócitos.

Foi mensurada a concentração do colesterol (total e frações), glicose e triglicerídeos (TG) séricos, de acordo com o kit comercial LabTest Diagnóstica®, Brasil. Para o cálculo das concentrações bioquímicas (mg/dL) foram aplicadas as seguintes fórmulas: absorvância do teste/absorvância do padrão x 200, para obter os valores de triglicerídeos e colesterol total; absorvância do teste/absorvância do padrão x 100, para glicose; absorvância do teste/absorvância do padrão x 40, para HDL; triglicerídeos/5, para VLDL; e Colesterol Total - (HDL+VLDL), para LDL. Para calcular o Índice Aterogênico foi utilizada a seguinte fórmula: colesterol total/ HDL¹⁸.

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e aprovada sob o Protocolo nº 636/2014, estando de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolve diretamente os animais.

Os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média (EPM) e analisados usando o software GraphPad Prism e SigmaStat, aplicando-se o teste *t* e análise de variância (ANOVA) de duas vias, com pós-teste de Bonferroni. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

RESULTADOS

O grupo experimental apresentou consumo de ração menor ($p < 0,001$) e maior ganho de peso total ($p = 0,001$) e CEA ($p < 0,001$) que o grupo controle (Tabela 1). Não houve diferença estatística no peso inicial entre os grupos ($p = 0,954$), sendo que a partir da quinta semana já se observou aumento significativo no peso dos animais do grupo experimental ($p = 0,020$), que se manteve até o final do experimento ($p < 0,001$) (Figura 1).

Tabela 1. Consumo de ração, peso inicial e final, ganho de peso e CEA de camundongos alimentados com dieta comercial e dieta hiperlipídica.

Parâmetros	Grupos de estudo		p
	Dieta Comercial (n=9)	Dieta Hiperlipídica (n=10)	
Peso inicial (g)	24,67±0,47	24,60±0,99	0,954
Peso final (g)	29,44±0,65	38,20±1,74	<0,001
Ganho de peso semanal (g)	0,40±0,03	0,99±0,16	0,003
Ganho de peso total (g)	4,78±0,32	12,22±1,04	0,001
Consumo total de ração (g)	269,19±5,94	220,51±7,51	<0,001
CEA	0,02±0,00	0,07±0,01	<0,001

CEA: Coeficiente de Eficiência Alimentar.
Valores representados em média ± erro padrão da média.
Teste *t* de Student.

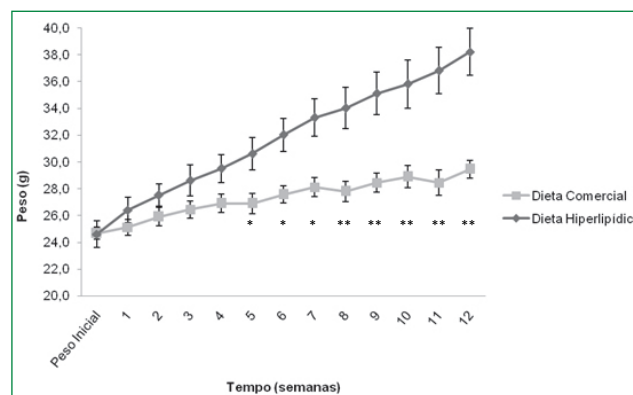


Figura 1. Ganho de peso semanal (média ± erro padrão da média) dos grupos alimentados com dieta comercial e dieta hiperlipídica.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$. ANOVA de duas vias, pós-teste de Bonferroni.

Foi observado que o grupo experimental apresentou maiores sítios de tecido adiposo epididimal ($p < 0,001$), retroperitoneal ($p < 0,001$), mesentérico ($p = 0,002$) e

perirrenal ($p=0,012$), sendo o somatório de gordura dos cinco sítios (incluindo omental) ($p<0,001$) e o Índice de Adiposidade ($p<0,001$) superior nesse grupo em comparação ao grupo controle, e o peso do fígado não diferiu entre os grupos ($p=0,553$), conforme **Tabela 2**.

O colesterol total foi maior no grupo experimental ($p=0,025$) e o HDL menor no grupo controle ($p=0,005$). Foram maiores no grupo experimental os níveis de glicemia (21,02%), triglicerídeos (14,46%), VLDL (14,93%) e LDL (45,15%), porém sem diferença significativa, $p=0,200$, $p=0,177$, $p=0,167$ e $p=0,157$, respectivamente (**Tabela 3**). O Índice Aterogênico não apresentou diferença significativa ($p=0,406$), sendo 3,5 no grupo controle e 3,1 no grupo experimental.

Na análise histológica observou-se que a área dos adipócitos do grupo experimental era maior ($p=0,049$) do que a do grupo controle, respectivamente, $5.601,0 \mu\text{m}^2$ e $2.005,7 \mu\text{m}^2$. Na análise histológica do fígado os dois grupos apresentaram esteatose hepática, sem diferença entre eles

Tabela 2. Peso do fígado e dos cinco sítios de tecido adiposo (TA) de camundongos alimentados com dieta comercial e dieta hiperlipídica.

Parâmetros	Grupos de estudo		p
	Dieta Comercial (n=9)	Dieta Hiperlipídica (n=10)	
Fígado (g)	1,13±0,03	1,01±0,18	0,553
TA Epididimal (g)	0,33±0,02	1,62±0,24	<0,001
TA Omental (g)	0,06±0,02	0,07±0,01	0,865
TA Retroperitoneal (g)	0,10±0,01	0,66±0,08	<0,001
TA Mesentérico (g)	0,21±0,02	0,91±0,18	0,002
TA Perirrenal (g)	0,05±0,01	0,23±0,06	0,012
Gordura total (g)	0,76±0,05	3,50±0,37	<0,001
Índice de adiposidade (%)	2,57±0,15	8,95±0,60	<0,001

Valores representados em média ± erro padrão da média.
Teste t de Student.

Tabela 3. Glicemia de jejum e lipídeos séricos de camundongos alimentados com dieta comercial e dieta hiperlipídica.

Parâmetros	Grupos de estudo		p
	Dieta Comercial (n=8)	Dieta Hiperlipídica (n=8)	
Glicemia de jejum (mg/dL)	92,75±9,69	112,25±10,79	0,200
Triglicerídeos (mg/dL)	89,00±5,69	101,87±7,03	0,177
Colesterol total (mg/dL)	140,75±22,30	213,37±18,29	0,025
HDL (mg/dL)	41,75±6,54	75,50±7,69	0,005
VLDL (mg/dL)	17,62±1,18	20,25±1,36	0,167
LDL (mg/dL)	81,38±15,67	118,12±18,90	0,157

Valores representados em média ± erro padrão da média.
Teste t de Student.

($p=0,814$), com densidade de volume de 63,75% no grupo que recebeu dieta hiperlipídica e 59,25% no controle.

No TOTG, assim como no teste de glicemia de jejum, não houve diferença significativa na comparação entre os grupos controle e experimental (**Figuras 2A, 2B e 2C**), cabendo destacar que, nos tempos 15 e 30 minutos, houve um pico de glicemia maior no grupo controle do que no experimental, embora sem diferença estatística.

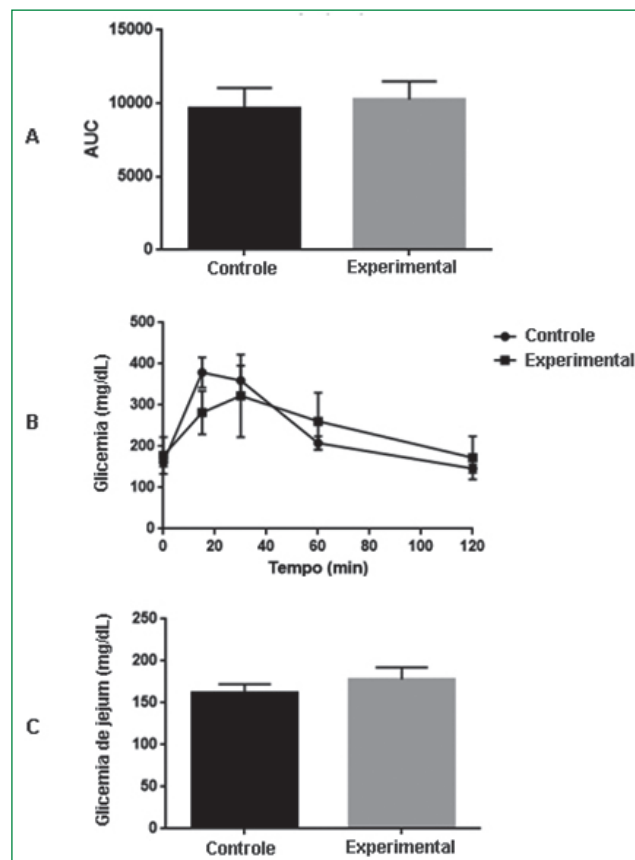


Figura 2. Área sobre a curva (AUC) obtida no teste de tolerância à glicose (TOTG) (A), curva glicêmica (B) e glicemia de jejum (C). Valores representados em média ± erro padrão da média.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo apontam que a modificação de uma dieta comercial específica para roedores, a partir do acréscimo de banha, apresentou baixo custo e boa aceitação pelos roedores, sendo capaz de alterar o peso corporal em tempo relativamente curto, porém alterou apenas parcialmente outros parâmetros avaliados neste estudo, especialmente no que se refere à alteração da glicemia e gordura hepática.

Sabe-se que o balanço energético sofre forte influência do estilo de vida, seja pelo padrão de consumo alimentar ou

pelas atividades motoras cotidianas. Ele corresponde à razão entre a quantidade de energia metabolizável ingerida e a quantidade gasta, podendo ser neutro, negativo ou positivo. A obesidade tem base etiológica no balanço energético positivo, que promove ganho excessivo de massa adiposa corporal¹⁹.

As linhagens isogênicas são obtidas a partir do cruzamento de animais consanguíneos por 20 gerações consecutivas, permitindo a criação de populações estáveis e geneticamente homogêneas. Devido à uniformidade genética, a utilização de camundongos da linhagem isogênica C57BL/6 torna mais propício o desenvolvimento da obesidade. Além disso, a ausência de variáveis genéticas entre os animais torna possível a utilização de um menor o número amostral para um experimento, coexistindo apenas as variáveis ambientais ou experimentais²⁰, o que diminui os custos com o experimento.

Os lipídeos representam a maior fonte energética, contendo 9 kcal por grama em comparação a 4 kcal por grama de carboidratos e proteínas²¹, por isso dietas hiperlipídicas são frequentemente utilizadas na tentativa de mimetizar a obesidade em modelos animais, de maneira semelhante à doença humana²². A densidade energética da dieta hiperlipídica é maior que da dieta padrão²³, o que explica o fato do consumo de ração do grupo experimental ter sido menor que o do grupo controle, porém com maior ganho de peso nesse grupo, resultando em diferença significativa no CEA.

No presente trabalho, a utilização da dieta hiperlipídica induziu a obesidade, com aumento da adiposidade visceral, verificada pela diferença significativa no peso dos sítios de tecido adiposo epididimal, mesentérico, retroperitoneal e perirrenal, do somatório dos sítios de tecido adiposo, no Índice de Adiposidade e, a partir da quinta semana de consumo da dieta hiperlipídica, do peso dos animais. O aumento da adiposidade visceral está associado à diminuição do HDL, hipertrigliceridemia, aumento da Apo B e das LDL pequenas e densas, e níveis de LDL normais ou marginalmente anormais, sendo que este tipo de dislipidemia aumenta consideravelmente o risco de doenças cardiovasculares²⁴.

Experimento com camundongos C57BL/6J verificou que uma dieta hiperlipídica, composta por 42% de lipídeos, promoveu aumento significativo na massa corporal desse grupo em comparação ao grupo padrão¹¹. Em outro experimento, camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram aumento significativo de peso corpóreo, quando comparados aos controles, a partir de 8 meses de indução²⁵. Em camundongos Swiss a dieta hiperlipídica também promoveu aumento significativo de massa corpórea, bem como da massa de tecido adiposo

epididimal, retroperitoneal e perirrenal, em relação ao grupo controle²³.

Além disso, a análise histológica do tecido adiposo mostrou um aumento significativo da área dos adipócitos no grupo de dieta hiperlipídica, assim como verificado por Ravagnani et al.²⁶, em estudo com ratos alimentados com dieta hiperlipídica contendo chocolate. Na obesidade ocorre uma hipertrofia dos adipócitos, sendo que esse processo acarreta um aumento da infiltração de macrófagos e da produção das citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6). Ocorre também elevação na liberação de ácidos graxos livres e desregulação na secreção de adiponectina, resistina e leptina. A secreção alterada destas adipocinas pode elevar a ingestão alimentar e reduzir o gasto energético¹. Estas adipocinas também podem exacerbar o processo inflamatório no organismo e estão envolvidas no desenvolvimento da resistência à insulina²⁷.

Com o maior fluxo de ácidos graxos livres há a perpetuação da resistência à insulina²⁸ e estes são utilizados na produção hepática de VLDL, lipoproteína rica em triglicerídeos, favorecendo o aparecimento da hipertrigliceridemia. Além disso, essa lipoproteína será metabolizada em LDL, que favorece o processo de aterogênese²⁹. Nesse estudo, o aumento do tecido adiposo, e conseqüentemente da liberação de ácidos graxos livres, nos animais do grupo que recebeu dieta hiperlipídica causou a elevação dos níveis de LDL, VLDL e triglicerídeos, porém sem diferença significativa em relação ao grupo controle.

Houve também uma elevação significativa do colesterol total e do HDL em relação ao controle, em conformidade com os achados de Almeida et al.³⁰, e o Índice Aterogênico não apresentou diferença significativa. Os ácidos graxos saturados, presentes em grande quantidade na ração hiperlipídica oferecida ao grupo experimental, são um dos componentes dietéticos que mais aumentam o LDL, promovendo também aumento do HDL, porém sem alterar o índice aterogênico³¹, mostrando que o aumento do HDL no grupo experimental não diminuiu o risco cardiovascular nesse grupo.

Os grupos experimental e controle apresentaram esteatose hepática, sendo classificada em moderada (de 33 a 66%) em ambos³² e sem diferença significativa entre eles. A esteatose hepática é uma condição onde há acúmulo de gordura no fígado, intimamente relacionada com a obesidade central, resistência à insulina, hipertrigliceridemia e hiperglicemia de jejum. Ela ocorre quando a síntese de ácidos graxos pelos hepatócitos excede o catabolismo. Assim, as possíveis causas de acúmulo de lipídeos no fígado são: (a) aumento da distribuição e absorção de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) para os hepatócitos devido ao excesso de ingestão

ou liberação a partir de tecido adiposo; (b) aumento da síntese hepática de AGCL e triglicerídeos; (c) falha do VLDL na síntese e exportação de triglicerídeos; e/ou (d) falha na eliminação dos AGCL devido à β -oxidação mitocondrial hepática³³. Um tempo maior de estudo e aumento do estresse oxidativo, considerado o principal gatilho na evolução da esteatose hepática para esteato-hepatite não alcoólica e cirrose³⁴, talvez promovesse diferença significativa entre os grupos, visto que houve aumento significativo dos níveis de colesterol total e aumento, sem diferença estatística, dos níveis de LDL, VLDL e triglicerídeos, no grupo experimental.

A evolução do diabetes mellitus passa por estágios intermediários, como a glicemia de jejum alterada e a intolerância à glicose e esses estágios são decorrentes da resistência à insulina combinada com a disfunção da célula β pancreática³⁵. Na resistência à insulina, as células β do pâncreas aumentam a produção de insulina como mecanismo compensatório, tentando, assim, normalizar os níveis de glicose no sangue, até que se verifica uma redução permanente da sensibilidade à insulina, com concomitante elevação da glicemia, o que leva ao desenvolvimento do diabetes mellitus³⁶.

Atualmente, para o diagnóstico do diabetes mellitus podem ser utilizados os sintomas de poliúria, polidipsia e perda ponderal, o teste de glicemia de jejum e o TOTG³⁵. Apesar de não ter apresentado diferença significativa na área da curva do TOTG e no teste de glicemia de jejum, o estudo verificou uma tendência ao desenvolvimento de diabetes mellitus nos camundongos C57BL/6, visto que a hiperglicemia de jejum fornece evidência tanto de resistência à insulina quanto de disfunção de célula beta³⁷, entretanto ressalta-se a necessidade de outras intervenções no modelo experimental para se alcançar tais objetivos. As dietas hipercalóricas, como demonstrado em artigo de revisão, são mais propensas a promover aumento significativo da glicose plasmática em roedores⁸.

O modelo de estudo aqui apresentado poderia trazer maiores informações para a literatura científica se outros grupos de estudo tivessem sido formados, especialmente utilizando a ração AIN-93⁷, visto que a grande maioria dos estudos publicados utiliza essa ração modificada com o acréscimo de gordura para produzir alterações metabólicas em roedores, mas nem sempre apresentam resultados eficazes em tal indução, pois a própria ração AIN padrão gera alterações metabólicas³⁸. Destaca-se que a ração AIN-93 apresenta alto custo se comparada a ração comercial utilizada neste estudo. Além disso, como os animais foram mantidos em colônias, não foi possível determinar a quantidade individualizada de ração consumida por cada animal.

Conclui-se que este modelo induziu a obesidade em um curto período de tempo e promoveu aumento da adiposidade visceral, com dieta de baixo custo. Entretanto, são necessários outros estudos visando melhorar sua eficiência e, assim, conseguir alterar de forma completa os lipídeos sanguíneos e a glicemia nos camundongos C57BL/6.

REFERÊNCIAS

- Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;316(2):129-39. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.018>
- Lee S, Bacha F, Silva AA. Waist circumference, blood pressure, and lipid components of the metabolic syndrome. *J Pediatr.* 2006;149(6):809-16. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.08.075>
- Sant'Anna S, Caiado NM, Silva LJ. Neuromodulação hipotalâmica: uma proposta terapêutica para obesidade. *Rev Med Saude Brasília.* 2014;3(2):192-204.
- Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. *Vigitel Brasil 2015: 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 2015.* Brasília: Ministério da Saúde; 2016.
- Soares FLP. Efeitos e mecanismos de ação da exclusão dietética de glúten de trigo na obesidade e resistência à insulina experimentais [tese]. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas; 2012.
- Mosca PRF, Silveira PP, Werlang ICR, Goldani MZ. Obesidade e genética. *Rev HCPA.* 2012;32(3):318-31.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC JR. AIN-93 purified diets 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.* 1993;123(11):1939-51. <https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939>
- Rosini TC, Silva ASR, Moraes C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo de distúrbios relacionados com a obesidade. *Rev Assoc Med Bras.* 2012;58(3):383-7. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302012000300021>
- Soares FLP, Santana L, Pinto LA, Dutra TS, Freitas KC, Kassuya CAL. Novo modelo experimental de síndrome metabólica induzida por dieta. In: 12^o Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição; 2013; Foz do Iguaçu. São Paulo: Nutrire - Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição - SBAN; 2013. p. 234-4.
- Chu HF, Pan MH, Ho CT, Tseng YH, Wang WW, Chau CF. Variations in the Efficacy of Resistant Maltodextrin on Body Fat Reduction in Rats Fed Different High-Fat Models. *J Agric Food Chem.* 2014;62(1): 192-7. <https://doi.org/10.1021/jf404809v>
- Moreira AS. Dietas ricas em gordura, frutose e sacarose: alterações no fígado [tese]. Rio de Janeiro: Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes; 2014.
- Freitas KC, Amancio OMS, Morais MB. High-performance inulin and oligofruktose prebiotics increase the intestinal absorption of iron in rats with iron deficiency anaemia during the growth phase. *Br J Nutr.* 2012;108(6):1008-16. <https://doi.org/10.1017/S0007114511006301>

13. Machado H, Pinheiro HS, Terra MM, Guerra MO, de Paula RB, Peters VM. Dissociação da resposta anti-hipertensiva e metabólica à losartana e espirolactona em ratos com síndrome metabólica experimental. *J Bras Nefrol.* 2012;34(4):328-36. <https://doi.org/10.5935/0101-2800.20120021>
14. Taylor BA, Phillips SJ. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. *Genomics.* 1996;34(302):389-98. <https://doi.org/10.1006/geno.1996.0302>
15. Mendonça FS, Evêncio-Neto J, Simões MJ, Simões RS, Baratella Evêncio L. Frequência de hipoplasia ovariana em vacas abatidas em Rondônia. *Arq Inst Biol.* 2006;68(Supl):267-70.
16. Aguilá MB, Pinheiro AR, Parente LB, Mandarim-de-Lacerda CA. Dietary effect of different high-fat diet on rat liver stereology. *Liver Int.* 2003;23:363-70. <https://doi.org/10.1034/j.1478-3231.2003.00858.x>
17. Catta-Preta M, Mendonça LS, Fraulob-Aquino J, Aguilá MB, Mandarim-de-Lacerda CA. A critical analysis of three quantitative methods of assesment of hepatic steatosis in liver biopsies. *Virchows Arch.* 2011;459:477-85. <https://doi.org/10.1007/s00428-011-1147-1>
18. Florence NT, Benoit MZ, Jonas K, Alexandra T, Désiré DDP, Pierre K, Théophile D. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2014;151(2):784-90. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.021>
19. Carvalho KMB, Dutra ES. Obesidade. In: Cuppari L. *Nutrição clínica no adulto.* 3ª ed. Barueri, SP: Manole; 2014. p. 185-214.
20. Ferreira LM, Hochman B, Barbosa MVJ. Modelos experimentais em pesquisa. *Acta Cir Bras.* 2005;20(2):28-34. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502005000800008>
21. Avesani CM, Santos NSJ, Cuppari L. In: Cuppari L. *Nutrição Clínica no Adulto.* 3ª ed. Barueri, SP: Manole; 2014. p. 45-62.
22. Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity.* 2007;15(4):798-808. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.608>
23. White PAS, Cercato LM, Araújo JMD, Souza LA, Soares AF, Barbosa APO, R Neto JM, Marçal AC, Machado UF, Camargo EA, Santos MRV, Brito LC. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2013;57(5):339-45. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302013000500002>
24. Barroso SG, de Abreu VG, Francischetti EA. A Participação do tecido adiposo visceral na gênese da hipertensão e doença cardiovascular aterogênica. *Arq Bras Cardiol.* 2002;78(6):618-30. <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2002000600012>
25. Kiperstok AC. Avaliação longitudinal da função cardíaca em modelo experimental de diabetes tipo 2 induzido por dieta hipergordurosa em camundongo [dissertação]. Salvador: Fundação Oswaldo Cruz; 2010.
26. Ravagnani FCP, Ravagnani CFC, Braga Neto JA, Voltarelli FA, Zavala AAZ, Habitante CA, Inouye CM. Efeito de dietas hiperlipídicas com extrato de baru e chocolate sobre a área de adipócitos de ratos submetidos ao exercício físico. *Rev Bras Med Esporte.* 2012;18(3):190-4. <https://doi.org/10.1590/S1517-86922012000300011>
27. Gutierrez DA, Puglisi MJ, Hasty AH. Impact of increased adipose tissue mass on inflammation, insulin resistance, and dyslipidemia. *Curr Diab Rep.* 2009;9(1):26-32. <https://doi.org/10.1007/s11892-009-0006-9>
28. Martínez G, Alonso R, Novik V. Síndrome metabólico: bases clínicas y fisiopatológicas para un enfoque terapéutico racional. *Rev Méd Chile.* 2009;137(5):685-94. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872009000500014>
29. Fonseca FAH. Síndrome metabólica sem obesidade central: mito ou realidade? *Rev Bras Hipertens.* 2008;15(3):168-9.
30. Almeida MEF, Medeiros RS, Figueiredo FJB, Coelho EJB, Sena MPT. Efeitos do estresse auditivo e da dieta hipercalórica sobre o peso corporal, lipídios e glicemia de ratos wistar. *Alim Nutr.* 2011;22(3):359-65.
31. Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HT, Magnoni CD, Cassani R, Lottenberg AMP, Casella Filho A, Araújo DB, Cesena FY, Alves RJ, Fenelon G, Nishioka SAD, Faludi AA, Geloneze B, Scherr C, Kovacs C, Tomazzela C, Carla C, Barrera-Arellano D, Cintra D, Quintão E, Nakandakare ER, Fonseca FAH, Pimentel I, Santos JE, Bertolami MC, Rogero M, Izar MC, Nakasato M, Damasceno NRT, Maranhão R, Cassani RSL, Perim R, Ramos S; Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. *Arq Bras Cardiol.* 2013;100(1 Supl. 3):1-40. <https://doi.org/10.5935/abc.2013S003>
32. Almeida e Borges VF, Diniz ALD, Cotrim HP, Rocha HLOG, Salomão FC. Dopplerfluxometria da veia hepática em pacientes com esteatose não alcoólica. *Radiol Bras.* 2011;44(1):1-6. <https://doi.org/10.1590/S0100-39842011000100005>
33. Takahashi Y, Soejima Y, Fukusato T. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol.* 2012;18(19):2300-8. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i19.2300>
34. Carvalheira JBC, Saad MJA. Doenças associadas à resistência à insulina/ hiperinsulinemia, não incluídas na síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006;50(2):360-7. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302006000200022>
35. Sociedade Brasileira de Diabetes. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014.* São Paulo: AC Farmacêutica; 2014.
36. Chiarelli F, Marcovecchio ML. Insulin resistance and obesity in childhood. *Eur J Endocrinol.* 2008;159(1):67-74. <https://doi.org/10.1530/EJE-08-0245>
37. Davies MJ, Raymond NT, Day JL, Hales CN, Burden AC. Impaired glucose tolerance and fasting hyperglycaemia have different characteristics. *Diabet Med.* 2000;17(6):433-40. <https://doi.org/10.1046/j.1464-5491.2000.00246.x>
38. Ferreira PA, Salame JP, Bastos RF, Francisco LS, Felix AOC, Felix SR, Nobre MO. Considerações sobre a dieta ain-93m elaborada para modelos biológicos. *Resbcal.* 2015;3(2):103-8.