



## AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOMÉTRICOS DE OBESIDADE E NÍVEIS SÉRICOS DE PCR-AS EM RATOS OBESOS JOVENS

*Juliana Galletti<sup>1</sup>, Gabriela de Castro Prado<sup>1</sup>, Larissa Fernanda Marquezine<sup>1</sup>, Edivan Rodrigo de Paula Ramos<sup>2</sup>*

**RESUMO:** A obesidade caracteriza-se pelo acúmulo de tecido adiposo e produção anormal de mediadores inflamatórios, associando-se às diferentes co-morbidades como a aterosclerose. Dentre esses mediadores destaca-se a proteína C reativa (PCR), utilizada no diagnóstico e prognóstico de doenças inflamatórias. Este trabalho determinou os níveis de PCR e os parâmetros de obesidade em animais jovens com obesidade induzida por redução de ninhada, dieta cafeteria e associação dos modelos visando verificar se a associação agravaria a obesidade. Para isso, foram utilizados ratos Wistar machos que, ao nascerem, foram divididos em grupos com ninhadas reduzidas e normais (03 e 12 animais/ninhada, respectivamente). Após o desmame ( $\pm 21$  dias), cada grupo subdividiu-se em dieta tradicional e cafeteria. Completados 30, 60 e 90 dias, amostras de sangue para determinação da PCR-AS e gorduras mesentérica, retroperitoneal e epididimal foram retiradas. Mediu-se peso e comprimento naso-anal para o cálculo do Índice de Lee. Os dois modelos induziram, significativamente, obesidade nos animais em 30, 60 e 90 dias de acordo com o Índice de Lee. Observou-se aumento significativo da gordura epididimal (30 e 90 dias), retroperitoneal (60 e 90 dias) e mesentérica (30, 60 e 90 dias) em animais da dieta, entretanto nos animais de redução de ninhada os valores não foram significativos. Os dois modelos associados aumentaram significativamente as três gorduras (60 e 90 dias) relacionados ao grupo controle. Valores de PCR-AS não foram detectados, impossibilitando avaliação do risco cardiovascular. Conclui-se que os modelos induziram obesidade nos animais jovens, isoladamente e associados, demonstrando a importância da nutrição pós-parto e vida adulta.

**PALAVRAS-CHAVE:** Obesidade; inflamação; PCR-AS; aterosclerose; gordura Epididimal, retroperitoneal e mesentérica.

### 1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma condição clínica que se caracteriza pelo acúmulo excessivo de gordura corporal e vem se tornando uma das maiores epidemias mundiais, pois há uma predisposição a doenças cardiovasculares (DCV), hipertensão arterial sistêmica (HAS), aterosclerose e diabetes tipo 2 (DM 2), dentre outras doenças graves (1). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2), 2,8 milhões de adultos morrem a cada ano como resultado de suas co-morbidades.

<sup>1</sup> Acadêmicas do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR. Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq-Cesumar). julianagalletti@hotmail.com, larimarquezine@hotmail.com, gabyzinha0402@hotmail.com

<sup>2</sup> Orientador e Professor Mestre do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR. edivanramos@yahoo.com.br



Além de sua elevada prevalência em adultos, vem sendo verificado uma tendência mundial de aumento da obesidade em crianças e adolescentes. Este fato preocupa, pois a presença de obesidade em fases precoces da vida pode precipitar, também em fases precoces, suas co-morbidades (3). Dessa forma, conhecer sua etiologia e mecanismos que regulam seu desenvolvimento é de grande relevância para o seu tratamento e prevenção.

As Diretrizes Brasileiras de Obesidade e Síndrome Metabólica (3) classificam a etiologia da obesidade como complexa e multifatorial, resultado da interação de genes, ambiente e fatores emocionais. No que se refere aos fatores ambientais, destaca-se a diminuição de atividades físicas e o aumento da ingestão de alimentos altamente calóricos, uma vez que nosso organismo está mais adaptado à conservação de energia do que ao gasto, possuindo assim, maior facilidade de ganho de gordura do que o inverso (4,5).

O acúmulo de tecido adiposo eleva a produção de mediadores inflamatórios e, por este motivo, representa um importante fator de risco para o desenvolvimento DCV e aterosclerose (6). A aterosclerose é caracterizada por uma inflamação crônica que se desenvolve de maneira lenta e progressiva na camada íntima de artérias de médio e grande calibre (7), e pelo fato de estar associada à inflamação, a detecção de marcadores envolvidos é útil para predizer os possíveis riscos de desenvolvimento de uma doença coronariana. Dentre os muitos marcadores, destaca-se a proteína C reativa (PCR), uma proteína de fase aguda produzida no fígado em resposta à citocinas (8,9). Pequenas alterações nos níveis de PCR no sangue é um forte indicador de aterosclerose em desenvolvimento. Por isso, técnicas laboratoriais que detectam baixos níveis de PCR no soro, PCR de alta sensibilidade (PCR-AS) são amplamente utilizadas (10). Sabendo que o tecido adiposo pode gerar uma inflamação crônica de baixa intensidade, pesquisas para esclarecer as relações entre medidas de adiposidade e PCR-AS vem sendo realizadas (11), uma vez que a PCR em um papel direto na indução de componentes inflamatórios como moléculas de adesão e interleucinas. Estes, por sua vez, favorecem o desenvolvimento e evolução da aterosclerose bem como exercem ações inibitórias sobre a angiogênese, favorecendo assim, o dano endotelial (12,13).

Na busca de entender os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento da obesidade, modelos experimentais animais de obesidade foram



desenvolvidos e vem fornecendo importantes contribuições nesta área (14). Um destes modelos é caracterizado pela introdução de uma dieta do tipo cafeteria que mimetiza a dieta ocidental com grande aporte calórico (15). Este modelo é mais simples e o que mais se assemelha à realidade humana atual (16). Outro modelo é o de redução de ninhada, onde os neonatos recebem uma superalimentação durante o desenvolvimento pós-natal, passando por um período de adaptação metabólica direcionada para a reserva de energia durante a vida adulta com consequente desenvolvimento da obesidade (17).

Embora seja conhecido que, tanto a redução de ninhada quanto a dieta cafeteria, possam alterar os parâmetros biométricos de obesidade em ratos com idade igual ou superior a 120 dias (ratos adultos), não encontramos na literatura trabalhos que demonstrem os efeitos destes modelos em ratos jovens bem como os efeitos da associação destes modelos. Neste contexto, este trabalho determinou os parâmetros biométricos de obesidade em ratos Wistar jovens obtidos por redução de ninhada, por dieta cafeteria e por ambos os modelos visando verificar os efeitos destes modelos e sua associação na indução de obesidade. Como objetivo específico, este projeto também determinou os níveis de PCR-AS nestes animais visando verificar se este marcador precoce de inflamação endotelial pode estar alterado em ratos jovens com obesidade induzida.

## 2 METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado mediante parecer favorável do Comitê de Bioética Animal do Cesumar (COBAC) nº 002A/2011.

Para a realização desta pesquisa foram utilizados 09 ratos *Wistar* machos e 27 fêmeas com idade entre 50 e 60 dias. Estes animais foram obtidos no Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e foram acondicionados no Biotério Central do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR) a uma temperatura de  $\pm 21^{\circ}\text{C}$  com ração e água *ad libitum*. O ciclo sono-vigília dos animais foi de 12 horas sendo que as luzes permaneceram apagadas entre 19:00 e 07:00 horas. Os animais utilizados para os experimentos foram obtidos através do cruzamento entre os animais citados. Para o cruzamento, foram acondicionadas 03 fêmeas para cada macho em um período entre 15 e 30 dias, em gaiolas medindo 32x40x13cm (um animal para cada 0,032m<sup>2</sup>). As fêmeas



preenhas foram individualizadas em gaiolas da mesma dimensão até o parto. As suas condições de acondicionamento dos animais obtidos foram às mesmas descritas para os progenitores.

Após o parto os animais foram divididos em dois grupos. No grupo A as ninhadas foram reduzidas a três animais machos por rata e, no grupo B, o número de animais foram mantidos em 12. Para este grupo foi dada prioridade para os animais machos e, quando necessário, foi completado com fêmeas durante o período de amamentação (aproximadamente 21 dias). Após este período, as fêmeas foram sacrificadas e os grupos foram subdivididos em A-1 e B-1, que receberam dieta normal contendo ração tradicional (Nuvilab CR®) e A-2 e B-2, que receberam uma dieta do tipo cafeteria de acordo com os dias da semana.

A dieta cafeteria foi composta por ração tradicional (Nuvilab CR®) e água juntamente com alimentos altamente calóricos e refrigerantes. Os alimentos recebidos pelos grupos com dieta cafeteria na segunda-feira foram mortadela, marshmallow, chips bacon, bolacha waffer, ração tradicional, refrigerante e água; na terça-feira, bolacha, chips queijo, salsicha, ração, refrigerante e água; na quarta-feira, pão francês, salsicha, chips bacon, ração, refrigerante e água; na quinta-feira, mortadela, bolacha waffer, paçoca, chips bacon, ração, refrigerante e água; na sexta, sábado e domingo, bolacha recheada, salsicha, chips queijo, geleia de mocotó, chocolate, ração, refrigerante e água. Os refrigerantes foram do tipo cola e guaraná e foram intercalados de acordo com os dias da semana. Todos os dias os alimentos foram pesados e o consumo de alimentos foi calculado para que se realizar a reposição dos alimentos.

Ao completarem 30, 60 e 90 dias de idade, os animais foram colocados em jejum entre 10 e 14 horas e foram anestesiados com tiopental sódico por via intraperitoneal na dose de 50mg/Kg. Os animais tiveram seu peso e seu comprimento naso-anal medidos e usados para o cálculo do Índice de Lee por meio da seguinte fórmula:  $[\text{raiz cúbica do peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm)} \times 1000]$  (18). Em seguida, uma amostra de sangue foi coletada, por meio de um cateter inserido na artéria carótida, e centrifugada para obtenção de soro para realização da dosagem da PCR-AS. Após a coleta, os animais foram sacrificados com dose letal de tiopental sódico (120 mg/kg) e as gorduras mesentérica, epididimal, retroperitoneal, foram retiradas, lavadas e pesadas em balanças



de alta precisão Bioprecisa<sup>®</sup>. Os resultados da massa de tecido adiposo extraído foram expressos como gramas de gordura por 100g de peso corporal (g/100g).

Para a realização da dosagem da PCR-AS a amostra de sangue foi transferida para um tubo sem anticoagulante que foi encaminhada ao laboratório de análises clínicas do CESUMAR. Após coagulação completa, as amostras foram centrifugadas e o soro separado do coágulo para determinação dos níveis de PCR-AS pelo método de imunoturbidimetria com Kit diagnóstico Laborclin<sup>®</sup> Proteína C-Reativa Turbiclin. A determinação das absorbâncias foi feita em aparelho semi-automatizado, BIO 2000<sup>®</sup> (Bioplus).

Os resultados foram descritos de forma quantitativa e analisados pelo programa estatístico *GraphPad Software Prisma*<sup>®</sup> 3.0 sendo utilizado o teste *One-Way ANOVA* (paramétrico), seguido de Bonferroni para análise de variância entre os grupos com nível de significância  $p < 0,05$ .

### 3 RESULTADOS

Tanto a dieta cafeteria quanto a redução de ninhada induziram, de forma significativa, obesidade nos animais em 30, 60 e 90 dias, com exceção do grupo de redução de ninhada em 60 dias, de acordo com os valores do Índice de Lee. Além disso, a associação da dieta cafeteria com a redução de ninhada não somente aumentou o Índice de Lee em relação ao grupo controle, como também produziu um valor significativamente maior que os grupos cujos modelos foram usados separadamente (Figura 1).

No que se refere à massa corporal, as diferenças significativas entre os grupos apareceram apenas com 60 dias e foi observada apenas com o grupo onde os animais tiveram obesidade induzida por ambos os modelos (Figura 2).

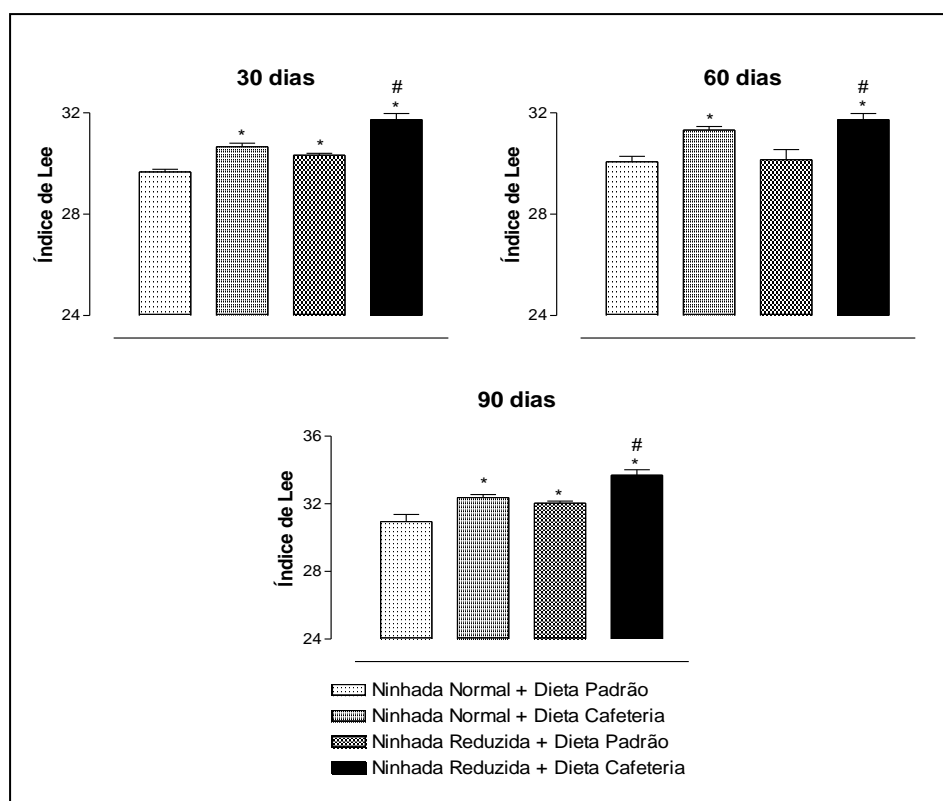
Os animais com obesidade induzida somente por dieta cafeteria tiveram um aumento significativo da gordura epididimal (30 e 90 dias) (Figura 3), da gordura retroperitoneal (60 e 90 dias) (Figura 4) e mesentérica (30, 60 e 90 dias) (Figura 5). Por outro lado, os animais com obesidade induzida apenas por redução de ninhada não tiveram valores significativamente diferentes do controle para massa de gordura



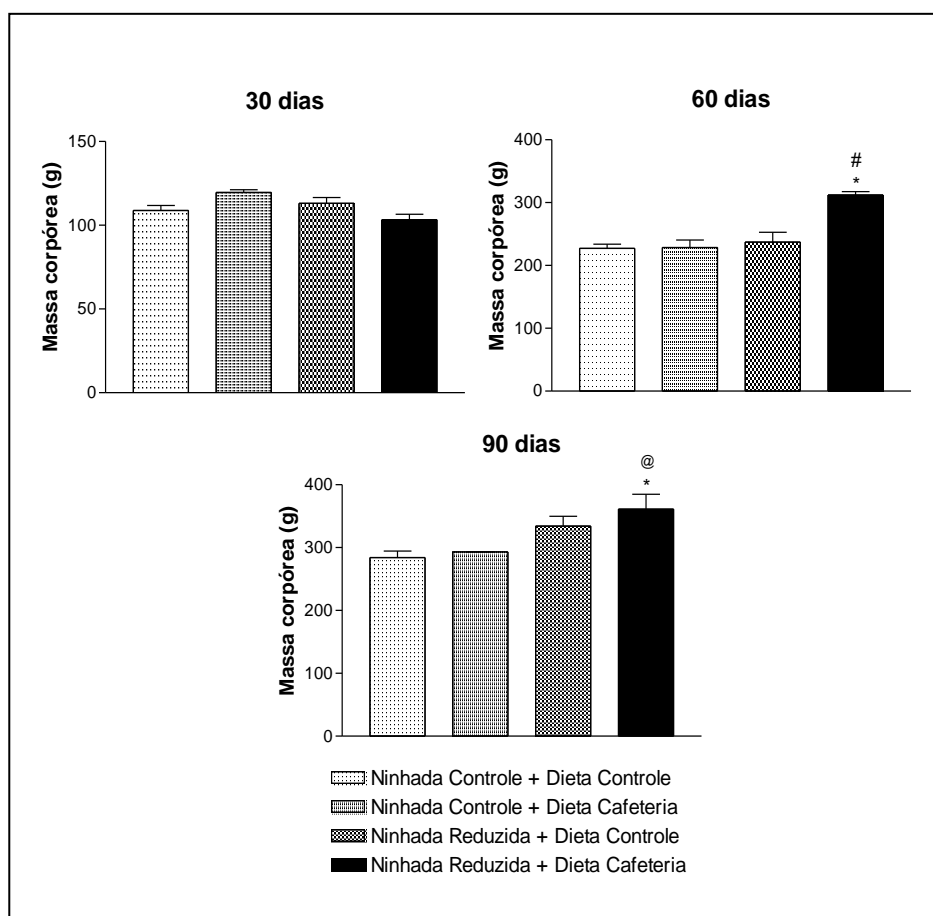
epididimal e retroperitoneal, somente para massa de gordura mesentérica em 30 dias (Figuras 3, 4 e 5, respectivamente). Com exceção dos grupos com 30 dias, a associação dos modelos de obesidade produziu aumentos significativos nas gorduras epididimal, retroperitoneal e mesentérica em relação ao grupo controle. Além disso, a associação da redução de ninhada com a dieta cafeteria promoveu ganhos de tecido adiposo significativamente maior em relação aos modelos isoladamente (Figuras 3, 4 e 5, respectivamente).

A dosagem do PCR-AS não mostrou valores desta proteína em todos os grupos avaliados.

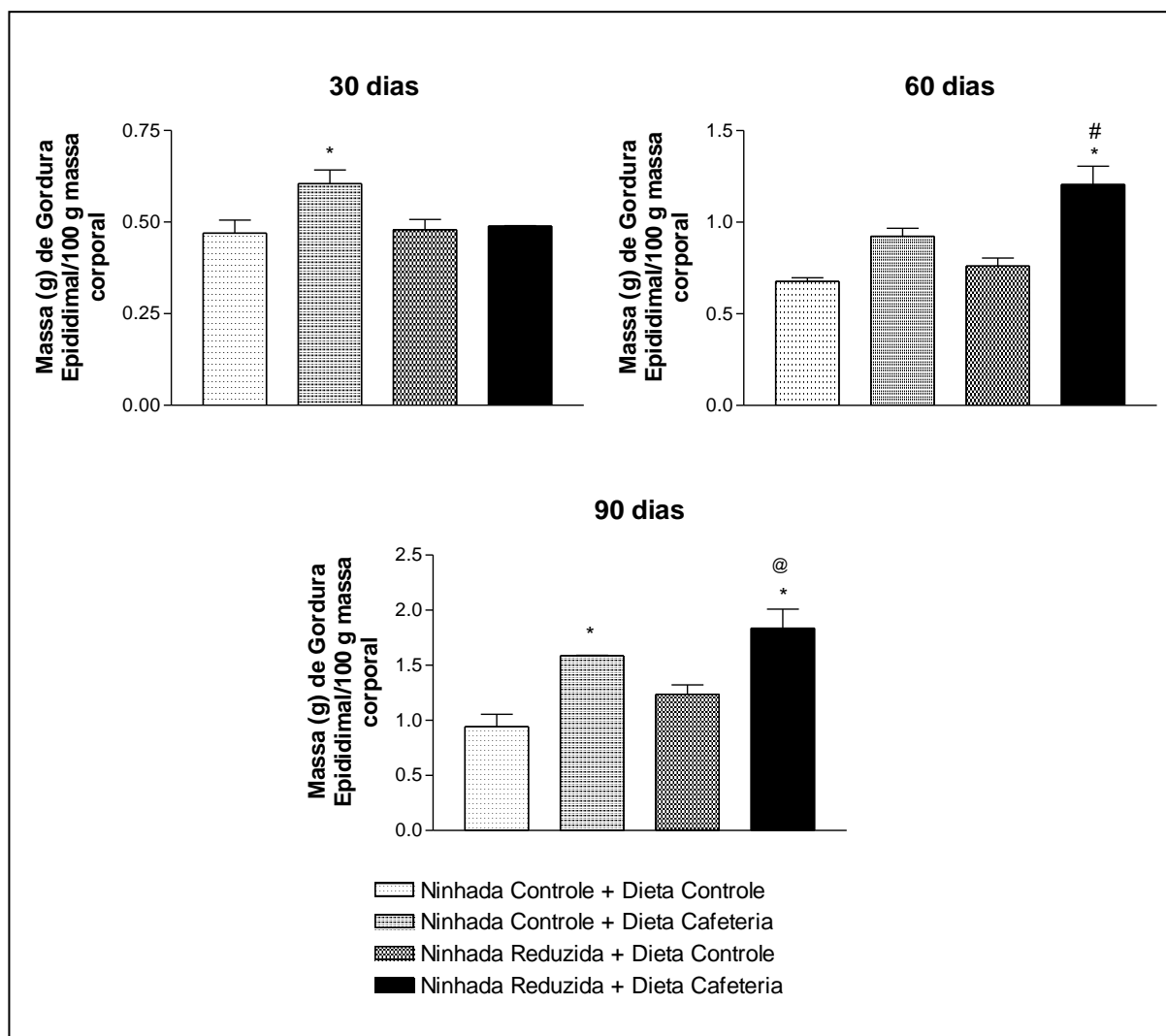
### 3.1 FIGURAS



**Figura 1:** Valores do Índice de Lee de ratos Wistar com 30, 60 e 90 dias tratados com dieta padrão (grupo controle) e com obesidade induzida por dieta cafeteria (ninhada controle + dieta cafeteria), por redução de ninhada (redução de ninhada + dieta controle) e por redução de ninhada associada à dieta cafeteria (ninhada reduzida + dieta cafeteria). A altura das colunas representa a média  $\pm$  o desvio padrão de 4 experimentos. \*Estatisticamente diferente em relação ao grupo controle. #Estatisticamente diferente em relação ao grupo com obesidade induzida somente por dieta cafeteria e ao grupo com obesidade induzida somente por redução de ninhada. One Way Anova (não paramétrico) seguido por Bonferroni ( $p < 0,05$ ).

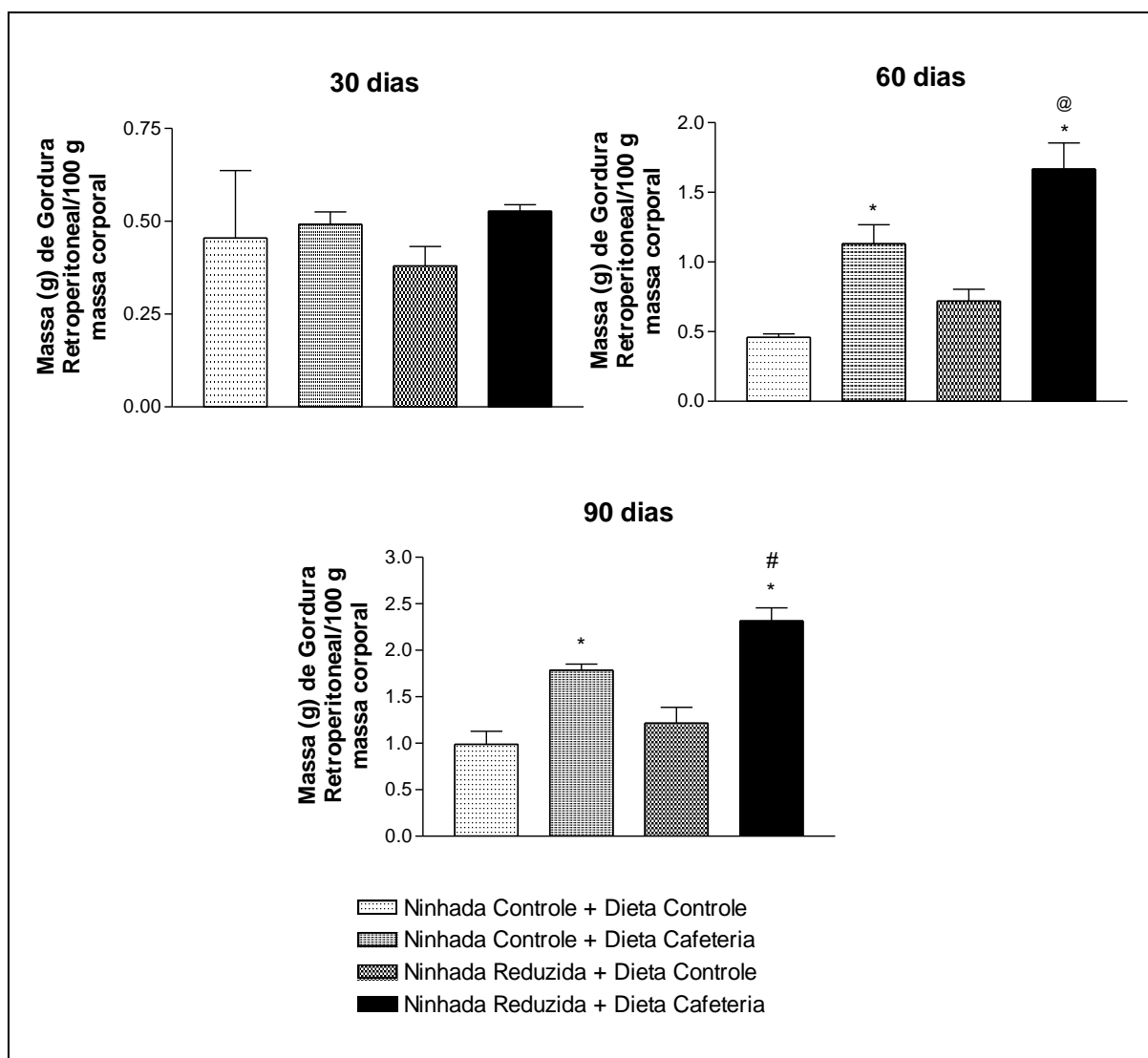


**Figura 2:** Massa corpórea, em gramas, de ratos Wistar com 30, 60 e 90 dias tratados com dieta padrão (grupo controle) e com obesidade induzida por dieta cafeteria (ninhada controle + dieta cafeteria), por redução de ninhada (redução de ninhada + dieta controle) e por redução de ninhada associada à dieta cafeteria (ninhada reduzida + dieta cafeteria). A altura das colunas representa a média  $\pm$  o desvio padrão de 4 experimentos. \*Estatisticamente diferente em relação ao grupo controle. @Estatisticamente diferente em relação ao grupo com obesidade induzida somente por dieta cafeteria. #Estatisticamente diferente em relação ao grupo com obesidade induzida somente por dieta cafeteria e ao grupo com obesidade induzida somente por redução de ninhada. One Way Anova (não paramétrico) seguido por Bonferroni ( $p < 0,05$ ).



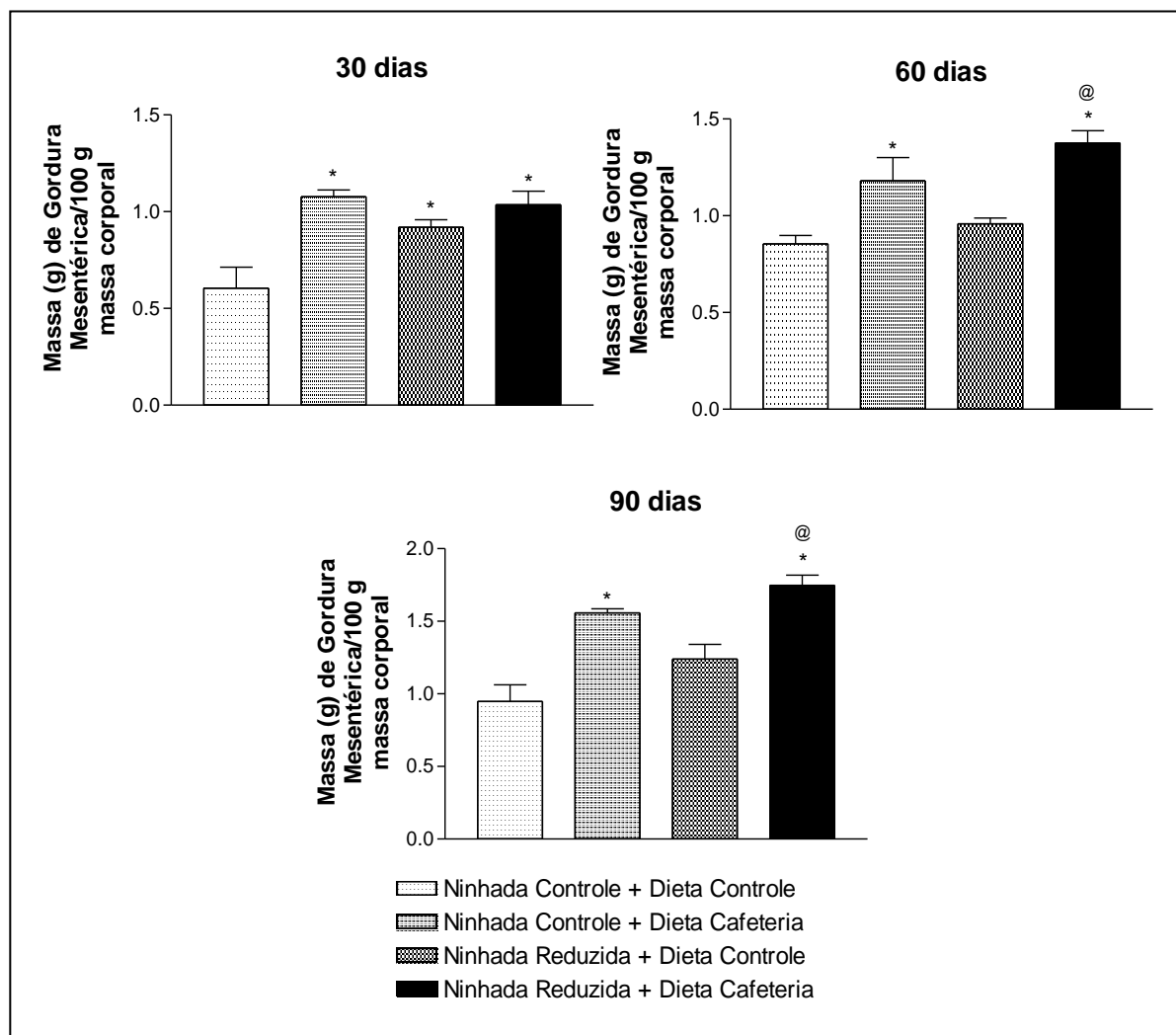
**Figura 3:** Massa de gordura epididimal (g/100 g de massa corporal) de ratos Wistar com 30, 60 e 90 dias tratados com dieta padrão (grupo controle) e com obesidade induzida por dieta cafeteria (ninhada controle + dieta cafeteria), por redução de ninhada (redução de ninhada + dieta controle) e por redução de ninhada associada à dieta cafeteria (ninhada reduzida + dieta cafeteria). A altura das colunas representa a média  $\pm$  o desvio padrão de 4 experimentos. \*Estatisticamente diferente em relação ao grupo controle. #Estatisticamente diferente em relação ao grupo com obesidade induzida somente por dieta cafeteria e ao grupo com obesidade induzida somente por redução de ninhada. @Estatisticamente diferente em relação ao grupo com obesidade induzida somente por redução de ninhada. One Way Anova (não paramétrico) seguido por Bonferroni ( $p < 0,05$ ).





**Figura 4:** Massa de gordura retroperitoneal (g/100 g de massa corporal) de ratos Wistar com 30, 60 e 90 dias tratados com dieta padrão (grupo controle) e com obesidade induzida por dieta cafeteria (ninhada controle + dieta cafeteria), por redução de ninhada (redução de ninhada + dieta controle) e por redução de ninhada associada à dieta cafeteria (ninhada reduzida + dieta cafeteria). A altura das colunas representa a média  $\pm$  o desvio padrão de 4 experimentos.

\*Estatisticamente diferente em relação ao grupo controle. #Estatisticamente diferente em relação ao grupo com obesidade induzida somente por dieta cafeteria e ao grupo com obesidade induzida somente por redução de ninhada. @Estatisticamente diferente em relação ao grupo com obesidade induzida somente por ninhada reduzida. One Way Anova (não paramétrico) seguido por Bonferroni ( $p < 0,05$ ).



**Figura 5:** Massa de gordura mesentérica (g/100 g de massa corporal) de ratos Wistar com 30, 60 e 90 dias tratados com dieta padrão (grupo controle) e com obesidade induzida por dieta cafeteria (ninhada controle + dieta cafeteria), por redução de ninhada (redução de ninhada + dieta controle) e por redução de ninhada associada à dieta cafeteria (ninhada reduzida + dieta cafeteria). A altura das colunas representa a média  $\pm$  o desvio padrão de 4 experimentos. \*Estatisticamente diferente em relação ao grupo controle. @Estatisticamente diferente em relação ao grupo com obesidade induzida somente por ninhada reduzida. One Way Anova (não paramétrico) seguido por Bonferroni ( $p < 0,05$ ).

#### 4 DISCUSSÃO

A etiologia multifatorial da obesidade e suas co-morbidades dificulta a compreensão exata dos mecanismos fisiopatológicos desta situação clínica. Entretanto, vários modelos experimentais de indução de obesidade vêm sendo usados separadamente para se atingir uma melhor compreensão dos seus mecanismos



patogênicos e, a partir disso, proporcionar melhores condições para prevenir e tratar a doença (14). Somente em roedores, além dos modelos usados neste trabalho, dieta cafeteria (15,19) e superalimentação durante o período perinatal através da redução de ninhada (17,20,21), também podemos encontrar modelos de obesidade pode ser induzida por lesão no núcleo ventromedial do hipotálamo (18,19) e por dietas hiperlipídicas (22,23).

Além do exposto acima, é importante destacar que a criação de animais de laboratório por si só já representa um modelo de obesidade, pois estes animais apresentam disponibilidade irrestrita de alimentos e não praticam atividade física. Um dos modelos que foi utilizado neste projeto, o da dieta cafeteria, tem ganho muito destaque entre os pesquisadores da área, por se aproximar muito da dieta ocidental. Este modelo é mais interessante que o clássico modelo de indução de obesidade com dieta hiperlipídica, pois também fornece uma quantidade elevada de calorias, mas de uma forma mais palatável o que causa hiperfagia nos animais (15,16). Além disso, o fornecimento da dieta aos animais pode ser iniciado em diferentes fases da vida, podendo ocorrer aos sete dias após o parto, após o desmame, ou ainda quando adultos (24). No presente estudo, a dieta iniciou-se a partir do desmame.

No modelo de redução de ninhada, os animais após o nascimento recebem uma superalimentação, passando por um período de adaptação metabólica para a reserva de energia durante a vida adulta, com conseqüente desenvolvimento da obesidade (17). Sendo assim, trata-se de um modelo experimental adequado para estudar as conseqüências imediatas e de longo prazo de supernutrição durante o período pós-natal (26). Isso ocorre pelo fato de que a redução no número de filhotes altera a quantidade e a qualidade da produção do leite, que passa a apresentar maior conteúdo de gordura e eleva a disponibilidade de nutrientes para os filhotes durante a amamentação, além de melhorar os cuidados com a prole (27,28). Trabalhos demonstram que animais de ninhadas reduzidas são hiperfágicos, obesos, intolerantes a glicose, resistentes à insulina na infância e vida adulta. Também apresentam hiperleptinemia, triglicérides elevados e distúrbios cardiovasculares na vida adulta (25,28).

Conforme descrito acima, o fato de ter origem multifatorial faz com que a associação dos modelos seja interessante do ponto de vista da avaliação da interação de diferentes fatores que predisõem à obesidade, como realizado neste trabalho. Ao analisarmos todos os parâmetros de obesidade, observamos que os animais obtidos por



redução de ninhada e alimentados com dieta cafeteria tiveram seus parâmetros biométricos de obesidade maiores que os animais obtidos por somente redução de ninhada ou somente dieta cafeteria. Isso nos leva a sugerir que as alterações no metabolismo induzidas pela redução de ninhada e maior aporte de alimentos na fase perinatal podem levar ao maior ganho de massa lipídica quando um novo aporte hipercalórico é fornecido ao animal.

Se considerarmos ainda que estes animais tem uma faixa etária jovem, mas que já se tornaram obesos, nossos resultados demonstram a importância de se manter um aporte nutricional adequado, porém não exagerado, logo no período pós-parto. Essa hipótese é reforçada pelo fato de que a supernutrição pós-natal é capaz de desencadear a programação de adiposidade (29). A hiperplasia adipocitária ocorre principalmente na fase intra-uterina, nos nove primeiros meses de vida, sete anos de idade e adolescência, mantendo-se estável nos outros estágios da vida. Aos vinte anos de idade, estabelece-se o número de células da fase adulta (20). Sendo assim, esses anos de vida são relevantes na prevenção da obesidade, pois ao estabelecer o número de células gordurosas, provavelmente não se alterarão mais durante a vida e o indivíduo terá grande dificuldade de perder ou manter o peso. Portanto, comportamentos alimentares do adulto podem ter sido modificados por variação nutricional na gestação ou lactação (21,30).

Considerando ainda que a obesidade é caracterizada pelo acúmulo de tecido adiposo, é importante que se observe em qual compartimento há a distribuição de gordura no organismo. Em humanos, é sabido que a gordura distribuída na cavidade visceral tem maior impacto negativo à saúde que aquela distribuída por todo o corpo. A gordura visceral leva a uma série de alterações metabólicas, como a produção de adipocinas e/ou diminuição do metabolismo do cortisol, que podem resultar em um aumento da pressão arterial e da resistência periférica à ação da insulina (17,19). Além disso, é possível que a hiperleptinemia secundária ao aumento da gordura visceral poderia determinar ativação do sistema nervoso simpático, com maior secreção de catecolaminas, e levar ao aumento da pressão arterial e resistência à insulina (15). A grande quantidade de ácidos graxos livres, provenientes dessa gordura, quando chegam ao fígado, determina aumento da gliconeogênese, diminuição da captação muscular de glicose e diminuição do metabolismo hepático de insulina (19).



Até onde sabemos o padrão de distribuição de gordura em roedores não tem sido associado a alterações particulares no metabolismo como aquelas citadas acima para gordura visceral em humanos. Dessa forma, não é possível fazer uma correlação exata entre a gordura visceral em humanos com a gordura retroperitoneal ou mesentérica em animais. De qualquer forma, não observamos diferenças significativas no ganho de massa adiposa entre os três compartimentos (mesentérica, epididimal e retroperitoneal) sugerindo que, pelo menos em ratos, o ganho de massa adiposa independe do compartimento estudado.

No que se refere apenas ao modelo de dieta cafeteria, encontramos ganhos de gordura significativos em todos os compartimentos avaliados. Esse ganho de massa adiposa também tem sido descrito em outros trabalhos envolvendo este modelo onde o ganho de peso corporal total de um animal é de aproximadamente 30 a 40% no final da 12ª semana de estudo. Esse ganho é resultado de um aumento significativo na quantidade de gordura visceral, resistência à insulina e hiperlipidemia (24,26). Porém, também tem sido relatado que a administração de dieta de cafeteria não produz ganho adicional de peso corporal quando comparado ao grupo de dieta-padrão devido, principalmente, ao fato de que animais, quando submetidos a dietas hipercalóricas, diminuírem seu consumo alimentar diário. Mesmo assim, estes animais mostram um evidente aumento da gordura visceral e retroperitoneal decorrente da alta quantidade de carboidratos e gordura contidos na dieta de cafeteria (15,19). Isso justifica nossos resultados sobre a massa corporal dos animais tratados apenas com dieta cafeteria onde não observamos diferenças significativas de peso entre este grupo e o grupo controle.

No que se refere ao ganho de peso em animais obtidos por redução de ninhada, estudos observaram que a superalimentação pós-natal induziu uma hiperfagia persistente nos animais acompanhada por um aumento significativo no peso corporal, até 90 dias de idade (28). Resultados semelhantes foram observados sendo que essa diferença em relação aos animais alimentados tornou-se evidente já no final da 1ª semana de vida pós-natal e que permaneceu constante até a idade adulta, sendo que o peso corporal final dos animais de ninhada reduzida foi 11% superior ao dos animais de ninhadas normais (17). Por outro lado, outros estudos demonstraram que os ratos submetidos à supernutrição pós-natal induzida pela redução de ninhada apresentaram discretas mudanças no peso corporal que foi mantida por um período de 10 semanas (25). Nossos resultados também não mostraram diferenças, pois não encontramos alterações significativas, com exceção



do índice de Lee e da massa de gordura mesentérica na faixa etária de 30 dias, nos animais obtidos somente por redução de ninhada. Isto sugere que o modelo de redução de ninhada torna o animal susceptível a se tornar obeso, mas que a supernutrição deve ser mantida para que o mesmo venha a ter um ganho de peso considerável.

Estudos que associam os dois modelos de obesidade são escassos. Estudos recentes utilizaram-se dos dois métodos a fim de induzir a obesidade em ratos da raça Sprague-Dawley e observaram que independentemente do tamanho da ninhada, a dieta rica em gorduras resultou em um aumento significativo no peso corporal em comparação com dieta padrão depois de apenas 2 semanas, assim como um aumento na massa gordurosa. Os animais das ninhadas reduzidas permaneceram, ao longo da vida adulta moderadamente mais pesados do que animais de ninhadas normais (25), sugerindo que a nutrição precoce pode ainda desempenhar um papel pequeno, mas importante.

O acúmulo de tecido adiposo presente em pacientes obesos tem sido associado a uma maior produção de mediadores inflamatórios o que tem mudado o conceito de obesidade. Estes mediadores são responsáveis pela maior resistência à insulina e desenvolvimento de doenças cardiovasculares (31-35). Sabe-se que o tecido adiposo, além de atuar como estrutura de proteção e sustentação, apresenta intensa atividade endócrina e metabólica. Dentre as diversas substâncias secretadas pelos adipócitos, tem-se a citocina pró-inflamatória Interleucina-6 (IL-6) (35). Estudos evidenciaram a associação entre o acúmulo de tecido adiposo e o aumento dos níveis de PCR (11,36), pois a síntese dessa proteína de fase aguda é fundamentalmente modulada pela IL-6 (11). A PCR, avaliada por meio de técnica de alta sensibilidade (PCR-AS), é um reconhecido marcador de inflamação crônica que tem sido associado ao desenvolvimento e progressão da aterosclerose mesmo em indivíduos aparentemente saudáveis (11,12,31,33,37).

Diferentemente de humanos, em ratos a relação entre PCR e obesidade e/ou aterosclerose não está estabelecida. Em um estudo recente, foram utilizados ratos da linhagem Wistar induzidos à obesidade através de dieta hiperlipídica a fim de observar o papel da PCR na aterosclerose consequentemente desenvolvida pelos animais. Os resultados relataram que a exposição à dieta rica em gordura determinou o desenvolvimento da aterosclerose sem, no entanto, alterar os níveis de PCR no soro (38).



Isso talvez seja explicado pelo fato da PCR não ser uma proteína de fase aguda em ratos e também não ativar o sistema complemento como o faz em humanos (39,40).

A dosagem de PCR realizada neste projeto não foi capaz de detectar esta proteína no soro dos animais estudados. Isso poderia estar relacionado com a sensibilidade do método utilizado que é capaz de detectar níveis de PCR apenas em concentrações iguais ou superiores a 0,05 mg/L. Contudo, a concentração de PCR em ratos é 100 vezes maior que em humanos com valores entre 30 e 60 mg/L (39,40). Talvez a não detecção de PCR neste projeto esteja associada ao fato de que os testes laboratoriais para dosagem de PCR em humanos são imunoquímicos e, portanto, com anticorpos específicos para esta proteína. Como a PCR de ratos tem apenas 70% de homologia com a PCR de humanos, é possível que os anticorpos utilizados no método não sejam capazes de interagir com a PCR de ratos. Entretanto, não encontramos na literatura informações que restrinjam a utilização do método empregado neste trabalho para detecção de PCR em ratos.

## 5 CONCLUSÃO

Conclui-se com este estudo que tanto a dieta cafeteria como a redução de ninhada foram eficientes em induzir os ratos à obesidade, ficando evidente o acúmulo acentuado de gorduras epididimal, retroperitoneal e mesentérica nos animais ainda jovens. Este fato foi potencializado quando os dois modelos foram associados, demonstrando a importância de se manter um aporte nutricional adequado, logo no período pós-parto e no decorrer da vida adulta. Não foi possível avaliar os riscos cardiovasculares provenientes dessa obesidade caracterizada, devido a molécula de PCR possuir diferença em sua estrutura quando comparada a humana, uma vez que o método para sua determinação se baseia em anticorpos. Tal fato não exclui a possibilidade dos animais expostos a estas condições desenvolverem riscos cardiovasculares. Dessa maneira, há necessidade de maiores estudos quanto a determinação desta proteína em animais para melhor compreensão dos riscos cardiovasculares que a obesidade pode desencadear.





## REFERÊNCIAS

Amaral O, Pereira C. Obesidade: da genética ao ambiente. **Educação, Ciência e Tecnologia**. 2008; (34): 301-22.

Blauth F, Lara GM, Wagner SC, et. al. Associação entre fatores de risco cardiovascular e proteína C-reativa em mulheres idosas. **J Bras Patol Med Lab**. 2008; 44 (2): 83-8.

Brasil AR, Norton RC, Rossetti, MB, et. al. Proteína C reativa como indicador de inflamação de baixa intensidade em crianças e adolescentes com e sem obesidade. **Jornal de Pediatria**. 2007; 83 (5): 477-80.

Bueno, PG. **Expressão da miostatina e actriib em ratos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício**. [Dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2009.

Carrolla L, Voisey J; Daal AV. Mouse models of obesity. **Clinics in Dermatology**. 2004; 22 (4): 345-9.

Casella Filho A, Araújo RG, Galvão TG, et al. Inflamação e Aterosclerose: Integração de Novas Teorias e Valorização dos Novos Marcadores. **Rev Bras Cardiol Invas**. 2003; 11 (3): 14-19.

Dantas EM, Pimentel EB, Gonçalves CP, Lunz W, et al. Effects of chronic treadmill training on body mass gain and visceral fat accumulation in overfed rats. **Braz J Med Biol Res**. 2010; 43 (5): 515-21.

Denardi CAS, Casella Filho A, Chagas ACP. A proteína C-reativa na Atualidade. **Rev SOCERJ**. 2008; 21 (5): 329-34.

Diemen VV, Trindade EM, Trindade MRM. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**. 2006; 21 (6): 425-9.

Eguchi R, Cheik NC, Oyama LM, et al. Efeitos do exercício crônico sobre a concentração circulante da leptina e grelina em ratos com obesidade induzida por dieta. **Rev Bras Med Esporte**. 2008; 14 (3): 182-187.

Fernandes AC, Gazzinelli A, Velásquez-Meléndez G. Associação entre medidas de adiposidade, variáveis demográficas e bioquímicas com os níveis séricos de proteína C-reativa em população rural. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 2009; 59 (1): 54-60.





Fett CA, Rezende WC. A termogênese como recurso de intervenção eficiente para o combate e controle da obesidade. **Rev Min Educ Fis.** 2001; 9 (1): 83-106.

Fontana L, Eagon JC, Trujillo, ME, et. al. Visceral Fat Adipokine Secretion Is Associated With Systemic Inflammation in Obese Humans. **Diabetes.** 2007; 56: 1010-13.

Ghezzi AC, Cambri LT, Ribeiro C, et al. Impacto da nutrição materna sobre a homeostase glicêmica da prole. **Anais de Congresso.** UNESP. 2009. Disponível em: <[www.prope.unesp.br/xxi\\_cic/27\\_36429493806.pdf](http://www.prope.unesp.br/xxi_cic/27_36429493806.pdf)>. Acesso em: 15 de setembro de 2011.

Kalsait RP, Khedekar PB, Saoji AN, et al. Role of C-Reactive Protein in the Development of Atherosclerosis in Diet-induced Lipidemia in Albino Rats. **Trop J Pharm Res.** 2011; 10 (1): 41-5.

Leite LD, Rocha EDM, Brandão-Neto J. Obesidade: uma doença inflamatória. **Revista Ciência & Saúde.** 2009; 2 (2): 85-95.

Lewis KE, Kirk EA, McDonald TO, et al. Increase in Serum Amyloid A Evoked by Dietary Cholesterol Is Associated With Increased Atherosclerosis in Mice. **Circulation.** 2004; 110: 540-45.

Lima JCC, Moreira A, Lima D, et. al. Validação da medida de proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) por quimioluminescência para a estimativa de risco cardiovascular em indivíduos ambulatoriais: análise comparativa com nefelometria. **J Bras Patol Med Lab.** 2005; 41 (1): 15-9.

Lima LM, Carvalho MG, Loures-Vale AA, et. al. Proteína C-reativa ultra-sensível em pacientes com diagnóstico de doença arterial coronariana estabelecido por angiografia. **J Bras Patol Med Lab.** 2007; 43 (2): 83-6.

Martins, Eliana Bender; Carvalho, Marília Sá. Associação entre peso ao nascer e o excesso de peso na infância: revisão sistemática. **Cad. Saúde Pública.** 2006; 22 (11): 2281-2300.

Martorell R, Stein AD, Schroeder DG. Early nutrition and later adiposity. **The Journal of Nutrition.** 2001; 131 (3): 874-80.

Menezes EF. **Efeito da indução de obesidade pela dieta de cafeteria a partir dos 21 dias de idade sobre a estrutura e o desenvolvimento folicular de ratas Wistar.** [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2010.



Nascimento AF, Sugizaki MM, Leopoldo AS, et. al. A Hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and co-morbidities in wistar rats. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2008; 52 (6): 968-74.

Organização Pan-Americana da Saúde. Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde. Brasília (DF), 2003.

Ortiz MA, Campana GL, Woods JR, et. al. Continuously-Infused Human C-Reactive Protein Is Neither Proatherosclerotic Nor Proinflammatory in Apolipoprotein E-Deficient Mice. **Experimental Biology and Medicine.** 2009; 234: 624-31.

Padilla ND, Bleeker WK, Lubbers Y, et. al. Rat C-reactive protein activates the autologous complement system. **Immunology.** 2003; 109: 564-71.

Pastore AP, Cesaretti MLR, Ginoza M, et al. Efeito da associação entre obesidade neuroendócrina e exócrina experimental sobre a pressão arterial de cauda e o metabolismo de glicose de ratos Wistar. **J Bras Nefrol.** 2010; 32 (2): 195-200.

Pereira LO, Francischi RP, Lancha Junior AH. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2003; 47 (2): 111-127.

Rodrigues AL, Souza EPG, Silva SVS, et. al. Low expression of insulin signaling molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition. **Journal of Endocrinology.** 2007; 195: 485-94.

Sá MPBO, Gomes RAF, Santos TOC, et. al. Proteína C-reativa de alta sensibilidade em pacientes com infarto agudo do miocárdio na emergência cardiológica. **Rev Bras Clin Med.** 2009; 7: 219-24.

Santos WB, Mesquita ET, Vieira RMR, et al. Proteína-C-Reativa e Doença Cardiovascular. As Bases da Evidência Científica. **Arq Bras Cardiol.** 2003; 80 (4): 452-56.

Shankar, Kartik et. al. Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 2008; 294, R528-R538

Slabbert S, Ridder HJ, Underhay C, et al. Obesity as an inflammatory condition. **Health SA Gesondheid.** 2006; 11 (2): 23-39.



Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol.** Volume 88, Sup. I, 2007.

Sociedade Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes Brasileiras de Obesidade e Síndrome Metabólica. AC Farmacêutica; 3 ed., 2009.

Souza F, Marchesini JB, Campos, ACL, et al. Efeito da vagotomia troncular em ratos injetados na fase neonatal com glutamato monossódico: estudo biométrico. **Acta Cir Bras.** 2001; 16 (1).

Velkoska E, Cole TJ, Morris MJ. Early dietary intervention: long-term effects on blood pressure, brain neuropeptide Y, and adiposity markers. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** 2005; 288: E1236-E1243.

Vera-Cruz M, Nunes E, Mendonça L, et. al. Efeito do chá verde (*Camelia sinensis*) em ratos com obesidade induzida por dieta hipercalórica. **J Bras Patol Med Lab.** 2010; 46 (5): 407-13.

Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **International Journal of Obesity.** 2006; 30: 400-18.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2011). **Obesity And Overweight.** Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>>. acesso em: 11 de setembro de 2011.