

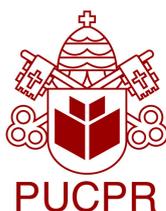
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

PAULA HIRT BOLLMANN

AVALIAÇÃO DO USO DE TRÊS TIPOS DE DIETAS PARA INDUÇÃO DA
OBESIDADE EM RATOS

CURITIBA

2008



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA

MESTRADO 2006/2008

**AVALIAÇÃO DO USO DE TRÊS TIPOS DE DIETAS PARA
INDUÇÃO DA OBESIDADE EM RATOS**

Projeto de dissertação apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Clínica
Cirúrgica da Pontifícia Universidade
Católica do Paraná.

Área de concentração: Nutrição em
Cirurgia

Orientação: Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha

Co-orientação: Prof^a. Magda Rosa Ramos
Quadros

CURITIBA

2008

" A Nutrição é uma ciência com uma amplitude de aplicações que não encontra paralelo na área da saúde"

Carreiro (2007)

DEDICATÓRIA

Ao meu amado marido Gustavo, que esteve sempre ao meu lado, me apoiando e ajudando nas horas difíceis, assim como me alegrando e me motivando a viver e realizar este sonho.

Aos meus pais e amigos, Hamilton e Miriam, e irmãos, Fernanda e Felipe, pelas palavras de carinho, conforto e incentivo durante toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Professor Doutor Sérgio Luiz Rocha, pela oportunidade cedida, pelo apoio e atenção durante o processo.

À minha amiga madrinha e co-orientadora Professora Magda Rosa Ramos Quadros, pela imensa dedicação, companheirismo e incentivo ao estudo e aperfeiçoamento na área da nutrição.

Aos profissionais e responsáveis pelo Biotério e pelos Laboratórios de Morfologia e Técnica Operatória da PUCPR, pela ajuda e paciência durante a fase experimental.

A Professora de estatística, Márcia Olandolski, pelo grande apoio e disposição em orientar toda etapa que envolveu métodos estatísticos.

RESUMO

Introdução: dietas hipercalóricas, com aumento do consumo de açúcares e gorduras desequilibram o balanço energético. A obesidade acarreta, em geral, menor perspectiva de vida, pois normalmente está associada a diversas comorbidades como a esteatose hepática, comum quando o peso corporal excede 70% do ideal. **Objetivo:** comparar os efeitos das dietas mista, hiperglicídica e hiperlipídica no armazenamento de gordura corporal, ganho de peso e função hepática em ratos. **Método:** vinte ratos machos *Wistar* foram alocados em grupos de 5 animais; grupo controle (GC); grupo hipercalórico misto (GHM); hipercalórico hiperglicídico (GHG) e hipercalórico hiperlipídico (GHL). Após oito semanas de fornecimento da dieta e aferição diária do peso da sobra por grupo, os animais foram pesados e sacrificados. Os tecidos adiposos epididimal (EPI), retroperitoneal (RET) e mesentérico (MES) foram retirados para pesagem, no plasma, avaliou-se TGO e TGP, além de peso do fígado e análise de esteatose. **Resultados:** O GHM obteve o maior valor de peso corporal, 21,75% superior ao GC, além de maiores índices dos tecidos adiposos (EPI, RET e MES) e fígado, no entanto representa o grupo com menor alteração bioquímica e principalmente menor acúmulo de gordura no fígado, 48,37% menos que o GC. Houve significativa sobra da ração no GHG. O GHL e GHG tiveram os menores pesos dos tecidos adiposos e de fígado mas apresentaram maior quantidade de células adiposas hepáticas, 244% e 195% superiores ao GC, além de alterações bioquímicas significativas em relação aos valores de TGO e TGP. **Conclusão:** conclui-se que a dieta hipercalórica mista é a forma mais eficaz na indução da obesidade e acúmulo de gordura corporal, com conseqüências bioquímicas semelhantes ao grupo controle. O GHL e GHG apresentaram relevantes níveis de adiposidade hepática e alterações sanguíneas das transaminases (TGO e TGP), sendo significativo os valores das sobras diárias de ração encontradas no GHG.

Palavras Chave: Obesidade, esteatose hepática, dieta hipercalórica.

ABSTRACT

Introduction: hipercaloric diets, with an increasing consume of sugars and fats, unbalance the energetic balance. Obesity causes, generally, lower life perspective, because normally is associated to several disease like the hepatic hepatic disease common when the body weight is over 70% from the ideal. **Objective:** compare the effects of mixed, hiperglucid and hiperlipidic diets, in body fat holding, gain of weight and hepatic function in rats. **Method:** twenty male Wistar rats were put in groups of 5 animals: Control group (GC); mixed hipercaloric group (GHM); hiperglicidic hipercaloric (GHG) and hiperlipidic hipercaloric (GHL). After eight weeks of providing the diet and diary control of leftover by groups, the animals were weigh and sacrificed. The adipose tissues (EPI, RET, MES) were taken to be weigh, on plasma. TGO and TGP were evaluated, besides the liver weight and hepatic adipose cells analyses. **Results:** the GHM had the biggest body weight value, 21,75% superior than GC, besides of bigger rates of the adipose tissues (EPI, RET and MES) and liver, although it represents the group with the lower holding of fat in the liver, 48,37% lower than GC. Relevant leftover of food on GHG. GHL and GHG had the lower weights of the adipose tissues and the liver, but have shown higher quantity of hepatic adipose cells, 244% and 195% bigger than TGO and TGP values. **Conclusion:** it can be concluded that the mixed hipercaloric diet is the best in obesity induction and body fat holding, with biochemical consequences similar to the control group. The GHL and GHG have shown relevant levels of hepatic adiposity and blood changes of TGO and TGP, being important the values of diary leftover of ration found in GHG.

Indexing terms: Obesity, hepatic disease, hipercaloric diet.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Classificação do estado nutricional de acordo com o Índice de Massa Corporal para adultos (IMC).....	60
TABELA 2 – Classificação para IMC acima de 40 kg/m ²	60
TABELA 3 – Informação nutricional da dieta padrão de 58 Kcal.....	12
TABELA 4 – Informação nutricional da ração do GHM.....	13
TABELA 5 – Informação nutricional da dieta do GHG.....	14
TABELA 6 – Informação nutricional da dieta do GHL.....	15
TABELA 7 – Teor calórico total (%) da dieta padrão e das modificadas.....	15
TABELA 8 – Controle do Peso Corporal Semanal por Grupo Durante o Período Experimental (APÊNCICE B).....	54
TABELA 9 – Comparação dos valores <i>p</i> entre os grupos.....	19
TABELA 10 – Comparação da massa corporal entre os grupos com dietas modificadas e o grupo controle.....	21
TABELA 11 – Valores das Sobras Semanais de Ração por Grupo (APÊNCIDE C).....	56
TABELA 12 – Comparação do valor de <i>p</i> entre os grupos em relação as médias das sobras (APÊNDICE D).....	58
TABELA 13 – Comparação dos valores de tecido adiposo EPI em gramas.....	24
TABELA 14 – Comparação do tecido adiposo RET em gramas.....	24
TABELA 15 – Comparação tecido adiposo MES em gramas.....	25
TABELA 16 – Valores <i>p</i> das comparações de EPI, MES e RET entre os grupos.....	25
TABELA 17 – Comparação entre os grupos em relação a média em gramas da massa do fígado dos animais.....	26
TABELA 18 – Valores <i>p</i> das comparações dos grupos 2 a 2 em relação a massa do fígado.....	26

TABELA 19 – Comparação do número de células adiposas hepáticas por grupo.....	28
TABELA 20 – Valores de p das comparações dos grupos 2 a 2 em relação ao número de células adiposas hepáticas.....	29
TABELA 21 - Valores comparativos por grupo da área das células adiposas hepáticas.....	30
TABELA 22 – Resultados das análises bioquímicas (TGO e TGP) por grupo ao final da pesquisa.....	32
TABELA 23 - Valores de p das comparações entre os grupos que apresentam diferença significativa.....	32

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Comparação da massa corporal entre os grupos estudados.....	18
GRÁFICO 2 – Registro da massa corporal dos animais no início da pesquisa.....	20
GRÁFICO 3 – Comparação da massa corporal entre os grupos ao final do experimento.....	21
GRÁFICO 4 – Valores médios (g) das sobras ração por grupo.....	23
GRÁFICO 5 – Média da massa do fígado dos grupos ao final da pesquisa.....	27
GRÁFICO 6 – Comparação do número de células adiposas hepáticas por grupo.....	30
GRÁFICO 7 – Comparação por grupo da área das células de gordura do fígado.....	31
GRÁFICO 8 – Níveis de TGO por grupo.....	33
GRÁFICO 9 – Níveis de TGP por grupo.....	34

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 1 – Fotos da diferença de peso dos GHM, GC, GHG e GHL, respectivamente.....	22
ILUSTRAÇÃO 2 – Variação de células adiposas hepáticas de cada grupo, GC, GHM, GHG e GHL, respectivamente.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS

IMC – Índice da Massa Corporal

DM – Diabetes Mellitus

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

GC – Grupo Controle

GHM – Grupo Hipercalórico Misto

GHG – Grupo Hipercalórico Hiperglicídico

GHL – Grupo Hipercalórico Hiperlipídico

LIP – Lipídios

PTN – Proteína

CHO – Carboidrato

MES – Tecido Adiposo Mesentérico

RET – Tecido Adiposo Retroperitoneal

EPI – Tecido Adiposo Epididimal

TAG - Triacilglicerol

TGO – Transaminase Glutâmico Oxaloacética

TGP – Transaminase Glutâmico Pirúvica

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE GRÁFICOS.....	x
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO	xv
1.1 Objetivo	4
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Esteatose Hepática	5
2.2 Dieta Hipercalórica	6
2.3 Dieta Hiperlipídica	8
2.4 Dieta Hiperglicídica	9
3. MÉTODO.....	11
3.1. Forma de Realização do Estudo	11
3.2 Elaboração da Dieta Padrão	12
3.3 Elaboração da Dieta Hipercalórica Mista	13
3.4 Elaboração da Dieta Hipercalórica Hiperglicídica.....	14
3.5 Elaboração da Dieta Hipercalórica Hiperlipídica	14
3.6 Resumo das Calorias Fornecidas por Dieta.....	15
3.7 Acompanhamento Experimental	16
3.8 Análise Estatística	17
4. RESULTADOS.....	18
4.1 Massa corporal.....	18
4.2 Análises das sobras	22

4.3 Avaliação de Gordura: Tecido Adiposo Epididimal (EPI), Tecido Adiposo Mesentérico (MES) e Tecido Adiposo Retroperitoneal (RET)	23
4.4 Peso do Fígado	26
4.5 Número de Células de Gordura.....	27
4.6 Área da Célula de Gordura Hepática	30
4.7 Análise Bioquímica	31
5. DISCUSSÃO	35
5.1 Massa Corpórea dos Animais e Consumo de Ração.....	35
5.2 Armazenamento de Gordura Corporal	37
5.3 Massa e Presença de Gordura no Fígado	40
5.4 Análises Bioquímicas	43
6. CONCLUSÃO.....	45
Referências	46
APÊNDICES.....	52
APÊNDICE A.....	53
APÊNDICE B.....	54
APÊNDICE C	56
APÊNDICE D	58
ANEXOS	59
ANEXO A	60
ANEXO B	61

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é atualmente um dos assuntos mais debatidos e de interesse universal, é a desordem nutricional que atinge todas as idades, raças e ambos os sexos. O aumento de sua prevalência confere-lhe grande importância como problema de saúde pública (1).

A obesidade ocorre pelo desequilíbrio energético entre a energia gasta e a ingerida através da alimentação, resultando em acúmulo de energia corporal na forma de gordura (2), além de também ser resultante da combinação de fatores exógenos, de origem comportamental, dietética e/ou ambiental, representando 95% dos casos; e endógena que está relacionada a componentes genéticos, metabólicos e endócrinos, os quais representam aproximadamente 5% dos casos (3,4).

O sedentarismo é encontrado com alta incidência na população obesa, além disso, o processo de modernização e transição econômica observada na maioria dos países tem promovido alterações na industrialização da produção alimentícia, que colabora para o consumo de dietas ricas em proteínas e gorduras e baixa ingestão de carboidratos complexos. Atualmente existe maior quantidade de alimentos disponíveis, enquanto a demanda energética da vida moderna tem caído drasticamente, tanto no trabalho quanto em casa, sendo poucas atividades consideradas muito ativas, enquanto há algumas décadas, a maioria tinha esta característica (4).

A obesidade, antes considerada sinal de fartura, saúde e padrão de beleza, deixou de ser vista como condição desejável, diante das evidências de morbimortalidade elevada (5). Reconhece-se atualmente a disseminação de epidemia mundial de excesso de peso e de obesidade, que é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, que afeta aproximadamente 1,7 bilhões de indivíduos e pode ser definida como um índice de massa corpórea (IMC) superior a 25 e 30 kg/m², para sobrepeso e obesidade, respectivamente (6,7,8). Esta classificação, de acordo com o IMC, está apresentada no ANEXO A, através das Tabelas 1 e 2.

Os pacientes com obesidade mórbida devem ser encarados como portadores de doença que ameaça a vida, reduz a qualidade de vida, a auto-estima e que requerem abordagens eficientes para promover uma perda de peso (9).

No Brasil, parece que a obesidade acomete mais os grupos de indivíduos com nível socioeconômico de baixa renda, com maior freqüência no sexo feminino de meia idade, justificado, na maioria dos casos, pelo maior consumo de carboidratos simples, de custo menor e associado a hábitos sedentários com menor gasto de energia física (10).

A progressão da transição nutricional, caracterizada pela redução na prevalência dos *déficits* nutricionais e a ocorrência mais expressiva de sobrepeso e obesidade, também tem sido detectada, não só na população adulta mais também em crianças e adolescentes. Segundo algumas teorias ambientalistas, as causas estão diretamente ligadas às mudanças no estilo de vida e aos hábitos alimentares. Confirmando estas teorias, verifica-se que a obesidade é mais marcante nas regiões mais desenvolvidas do Brasil, como Sul e Sudeste, pelas mudanças de hábitos associadas a todo este progresso (11,12,13).

Monteiro *et al.* (14), realizaram estudo no Brasil comparando três avaliações transversais de base populacional nos anos de 1975, 1989 e 1996, onde descreveram aumento na velocidade de crescimento da obesidade, causada pela transição dos padrões nutricionais, com a diminuição da desnutrição e o aumento da obesidade. Estes dados são reforçados com o crescimento maior que 90% da população obesa em nosso país nos últimos 30 anos, chegando hoje a três milhões de obesos mórbidos (15).

Hoje, estima-se que aproximadamente 97 milhões de adultos nos Estados Unidos estejam classificados como obesos, representando 55% de toda a população do país, e este aumento da obesidade também é registrado em países em desenvolvimento (16). Nos países europeus, a obesidade em adultos com idade entre 40 a 60 anos varia de 10% a 18% nos homens e 25% a 44% nas mulheres. Em países orientais como o Japão e a China, a freqüência desta doença decai consideravelmente, indicando taxas de apenas 3% da população,

mas, por outro extremo, na Austrália e Nova Zelândia são encontrados valores de 41% a 70% (17).

A distribuição da gordura corporal está diretamente relacionada à etiologia dos desarranjos metabólicos decorrentes da obesidade. A deposição de gordura na região abdominal caracteriza a obesidade abdominal visceral, que é o mais grave fator de risco cardiovascular associado à hipertensão, dislipidemias, aceleração da progressão da arteriosclerose, além de fatores psicossociais. Esta associação entre obesidade centralizada e um ou mais dos distúrbios metabólicos são caracterizados como síndrome metabólica (3,18).

Apenas em um pequeno número de casos as iniciativas de tratamentos clínicos (dietas, medicações, atividade física, internamento e psicoterapia) têm sido eficazes. Uma abordagem mais dirigida ao obeso mórbido passou a ocorrer mais recentemente, com o surgimento e popularização da cirurgia bariátrica como uma opção terapêutica contra o excesso de peso (19). O tratamento cirúrgico, quando indicado de acordo com as diretrizes internacionais vigentes, representa importante recurso como tratamento terapêutico para portadores de obesidade mórbida, sendo candidatos a esse tipo de tratamento pacientes que atingem IMC acima de 40kg/m^2 ou 35kg/m^2 associado a comorbidades (20).

A obesidade e o sobrepeso têm sido associados a um estio de vida sedentário e uma dieta rica em lipídio, além do aumento no consumo de carboidratos simples (21). Portanto, há necessidade de mais explicações sobre o ganho de peso e real armazenamento de gordura corporal de acordo com a dieta consumida e suas conseqüências para a saúde.

Devido à limitação de estudos em relação à obesidade em seres humanos, procuramos animais de experimentação para criarmos modelos de obesidade experimental, tanto para avaliação clínica e laboratorial, quanto para a aplicação de tratamentos visando à perda de peso.

Vários tipos de dietas podem ser disponibilizados para que se adquira a obesidade em animais como hiperlipídicas, hipercolesterolêmicas e/ou ricas em gordura *trans*, dietas hiperglicídicas além de hipercalóricas mista. Idealizou-se estudar a resposta de ratos frente à ingestão de diferentes dietas hipercalóricas.

Com isto, os efeitos maléficos do armazenamento de gordura corporal de acordo com a dieta hipercalórica recebida, simplificariam trabalhos futuros em relação à escolha do macronutriente a ser acrescido na dieta, além das conseqüências bioquímicas à saúde do animal.

1.1 OBJETIVO

Comparar os efeitos das dietas mista, hiperglicídica e hiperlipídica no armazenamento de gordura corporal, ganho de peso e função hepática em ratos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A obesidade acarreta, em geral, menor perspectiva de vida, pois normalmente está associada à colesterolemia, hipertensão, doenças coronarianas, complicações pós-operatórias, limitações na função respiratória, propensão a cálculos biliares, cirrose, constipação, diverticulose, varizes, hérnia de hiato, diabetes melitus (DM) e arteriosclerose precoce (22, 23).

No Brasil, em 1996, as doenças do aparelho digestório constituíram a sétima causa de mortalidade, estando às doenças do fígado em primeiro lugar neste grupo. A doença hepática resulta em grande impacto nutricional, independente da sua etiologia, pelo fato do fígado ser responsável por inúmeras vias bioquímicas de produção, modificação e utilização de nutrientes (24).

Teoricamente a esteatose hepática pode ser conseqüente de ingestão excessiva de álcool, infecção crônica pelo vírus da hepatite além de ser causada por maior aporte de ácidos graxos para o fígado, aumento ou redução da oxidação de ácidos graxos ou defeito na remoção de triglicerídeos como lipoproteínas de baixa densidade (25, 26).

2.1 ESTEATOSE HEPÁTICA

O aumento da incidência de esteatose hepática não alcoólica no Brasil e no mundo está se tornando um problema clínico emergente entre os portadores de obesidade, mesmo em crianças e adolescentes, podendo levar a cirrose hepática. Tominagata *et al.* (27) ressaltou que esta doença afeta 2,6% das crianças e 10% a 25% dos adolescentes, entretanto em crianças com diagnóstico de obesidade esse número salta para 22,5% a 52,8%, especificando que a alta adiposidade visceral pode acentuar significativamente esses índices. Além de verificaram que 20% dos pacientes obesos com esteatose hepática desenvolvem cirrose ou carcinoma hepatocelular.

A esteatose hepática é comum quando o peso corporal excede 70% do ideal, tendo maior concentração de tecidos de gorduras expandidos, fazendo com que a lipólise seja intensificada e como consequência, mais ácidos graxos sejam fornecidos para o fígado (5). Esta doença é definida como doença crônica, com potencial evolutivo, que apresenta teor de gordura, na sua maior parte de triglicerídeos, superior a 5% do peso do fígado (28).

As alterações hepáticas têm importante contribuição na morbimortalidade de pacientes com obesidade severa. Estudos mostram que, pelo menos 20% de pacientes obesos desenvolvem cirrose, causando grande número de mortes nesta população (29). Obesos têm aproximadamente seis vezes mais chance de desenvolver cirrose do que a população em geral (30).

A doença hepática resulta em grande impacto nutricional, independente da sua etiologia, pelo fato de o fígado ser responsável por inúmeras vias bioquímicas na produção, modificação e utilização dos nutrientes e outras substâncias metabolicamente importantes, ocasionando desnutrição protéico-calórica, caracterizada por depleção dos estoques de gordura ou massa muscular. Intervenções dietéticas podem melhorar o estado nutricional de pacientes com doença hepática, reduzir complicações e hospitalizações, além de melhorar a qualidade de vida. A perda de peso ocasionada por dieta com poucas calorias é acompanhada de melhora do quadro e normalização das funções hepáticas (31, 32, 33).

2.2 DIETA HIPERCALÓRICA

Há muitos anos, pesquisadores de todo mundo têm procurado fazer associações entre padrões alimentares e risco de morbidade e mortalidade. Algumas peculiaridades da transição nutricional ocorrem em diversos países, apresentando como consequência; obesidade, diabetes e doença cardiovascular, em torno das quais oscilam outros distúrbios agregados, como dislipidemias,

doenças osteoarticulares além de outras manifestações de caráter degenerativo (34,35).

São essas conseqüências que predominam em populações com maior expectativa de vida, associados à dieta rica em gorduras (particularmente as de origem animal), açúcar e alimentos refinados, como ingestão baixa de carboidratos complexos e alimentos ricos em fibras. Com isso ocorrem mudanças na composição corporal e aumento ponderal (14).

Para que haja o aumento de peso é necessário que ocorra um balanço energético positivo, o qual surge quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto ou quando há diminuição do gasto energético diário sem alteração da ingestão calórica (36, 37).

As dietas utilizadas para a indução da obesidade em animais possuem efeitos e resultados complexos e dependem da genética do animal, do tempo de duração da dieta e/ou da sua composição (38). Em animais de laboratório é possível induzir a obesidade através da abundância de alimentos e redução da atividade e conseqüente gasto calórico, causando um importante desequilíbrio do balanço energético (2).

Em ratos geneticamente obesos, homozigotos para o gene *ob*, possuem alta concentração sanguínea de glicose e insulina quando estes têm livre acesso ao alimento, mas é reversível quando é fornecida uma alimentação restrita, e esta combinação é a causa mais provável de obesidade, pois a insulina pode estimular a conversão de glicose em gordura no tecido adiposo (39).

O tipo de alimentação também está ligado à regulação da ingestão e gasto calórico. Katan (41) em estudos com animais apontou a dieta hiperlipídica como sendo componente importante na etiologia da obesidade, já que esta comprovadamente levou ao excesso de gordura corporal em macacos, cães, suínos, esquilos, hamsters e ratos, sendo que as causas dessa resposta ainda não estão claras.

Morris & Zemel (42) demonstraram que o maior conteúdo de carboidrato na dieta, principalmente na forma simples, representam um forte fator de risco para o desenvolvimento da obesidade.

2.3 DIETA HIPERLIPÍDICA

O desenvolvimento da obesidade em ratos através de manipulação dietética é um fenômeno que tem recebido muita atenção recentemente. Estudo em ratos mostra que, quando estes animais são alimentados desde o nascimento com quantidade grande de gordura, existe maior predisposição de se tornarem animais obesos (43). Fisiologicamente, dentre todos os outros macronutrientes, os lipídios são os que apresentam a maior densidade energética e a maior capacidade de estoque no organismo, sendo o macronutriente que mais fornece calorias por grama e sua ingestão excessiva parece contribuir para o aparecimento de várias doenças como diabetes, obesidade, derrame, doenças coronarianas e câncer (4)

Katan (42) apontou a dieta hiperlipídica como sendo um componente importante na etiologia da obesidade, por consequência do excesso de gordura corporal ocasionada por este perfil de dieta em vários animais.

Silva *et al.* (23) concluíram que o tipo de ácido graxo oferecido na dieta desde o período de lactação, pode influenciar o metabolismo lipídico do tecido adiposo na idade jovem, bem como o comportamento alimentar e ganho de peso corporal, como possíveis repercussões para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis.

Dieta rica em gordura saturada, a qual é encontrada em países como Europa, América do Norte e Oceania, está fortemente associada a doenças cardiovasculares, além de vários tipos de câncer (44).

Por volta da década de 60, conseqüentes dos efeitos aterogênicos causados pelo consumo elevado de lipídios saturados, preconizou-se a substituição de grande parte dos ácidos graxos saturados da dieta, por ácidos graxos poliinsaturados e, com isto, a substituição da banha, por óleos hidrogenados e da manteiga, pela margarina. No entanto, a margarina e os óleos vegetais parcialmente hidrogenados são fontes relevantes de ácidos graxos *trans*,

os quais aumentam a concentração plasmática da LDL, de maneira similar aos ácidos graxos saturados, além de diminuir a concentração sanguínea de HDL (23).

Os efeitos metabólicos dos ácidos graxos *trans* são pouco conhecidos. Sabe-se que estes ácidos graxos podem ser absorvidos e incorporados de maneira semelhante aos ácidos graxos de configuração *cis*, competindo inclusive pelos mesmos sistemas enzimáticos envolvidos na síntese de ácidos graxos poliinsaturados e eicosanóides e ligando-se as membranas nas mesmas posições frequentemente ocupadas pelos ácidos graxos saturados (45, 46).

2.4 DIETA HIPERGLICÍDICA

Dieta com alto teor de carboidrato vem sendo utilizada para promover aumento de peso em ratos, sendo o grau de obesidade desencadeada variando de acordo com a forma e com o tipo deste macronutriente (47,48).

Os carboidratos também têm papel importante no ganho de peso e conseqüente aparecimento da obesidade, pois são alimentos considerados energéticos, contribuindo com cerca de 50% a 80% das calorias totais ingeridas pela alimentação, dependendo da região e do país. A porcentagem ao redor de 50% de carboidrato é consumida nos países desenvolvidos e industrializados enquanto os países em desenvolvimento apresentam uma maior dependência a este nutriente (47, 48).

O excesso de açúcar e outros carboidratos simples podem contribuir para o aumento da glicemia em pacientes diabéticos, mas ao contrário da opinião popular, o açúcar não é causa do diabetes melitus (DM) e sim uma das muitas variáveis como a ingestão total de calorias ou o estresse, os quais também podem aumentar estes níveis (49).

O aumento de peso é consequência de alimentação desbalanceada, rica em alimentos industrializados altamente calóricos, com desequilíbrio entre os macronutrientes, especialmente carboidrato simples e gordura, aliado à diminuição do gasto energético proveniente do sedentarismo. Essa combinação torna-se de risco para diversas doenças, normalmente associadas à obesidade, como o acúmulo de células adiposas no organismo, especialmente no fígado.

3. MÉTODO

Foram adotados como normas, os princípios éticos de experimentação animal, preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA-1997), Nômina Anatômica Veterinária e as normas de redação de trabalhos científicos de Vancouver. O projeto obteve a liberação pelo comitê de uso de animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

A instituição forneceu as gaiolas, os utensílios para alimentação, materiais para coleta das amostras, além dos animais, sendo os demais materiais financiados pelos pesquisadores, como os exames laboratoriais, a ração e os macronutrientes acrescidos à ração para aumentar o valor calórico.

3.1. FORMA DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

Neste estudo foram incluídos 20 ratos machos, adquiridos e fornecidos pelo Biotério Central da PUCPR, recém-desmamados, com 21 dias, da linhagem Wistar com peso inicial de 61,1g. Os animais foram alocados em 4 grupos (n=5), aleatoriamente, definidos pela dieta alimentar:

GRUPO CONTROLE (GC) (n=5) - Animais com dieta padrão (20g/dia)

GRUPO HIPERCALÓRICO MISTO (GHM) (n=5) - Animais com dieta hipercalórica mista (24g/dia)

GRUPO HIPERCALÓRICO HIPERGLICÍDICO (GHG) (n=5) - Animais com dieta hipercalórica hiperglicídica (20g/dia)

GRUPO HIPERCALÓRICO HIPERLIPÍDICO (GHL) (n=5) - Animais com dieta hipercalórica hiperlipídica (20g/dia)

O ganho de peso, com diferentes perfis de dieta, foi induzido pelo período de oito semanas, sendo os ratos mantidos em gaiolas individuais, com livre acesso ao alimento previamente especificado e calculado, em local com ciclos de iluminação 12/12 horas e trocas de ar e temperatura controlada de 19° a 23°C.

Após oito semanas de acompanhamento, os animais foram pesados e em seguida, fotografados para posterior comparação visual entre os grupos. As fotos foram realizadas no Biotério, com temperatura e iluminação local controladas, no mesmo dia e com distância padrão para todos os animais.

3.2 ELABORAÇÃO DA DIETA PADRÃO

A ração utilizada foi Nuvilab CR-1 da marca comercial Nuvital®, na quantidade de 20 gramas ao dia, fornecendo um total de 58 Kcal. Suas informações estão contidas na tabela 3.

As dietas modificadas foram armazenadas em refrigeração no Biotério da PUCPR.

TABELA 3. Informação nutricional da dieta padrão de 58 kcal.

Macronutriente	Porcentagem (%)	Calorias (Kcal)
Lipídio	11	6,4
Proteína	24	13,90
Carboidrato	65	37,7
Total	100	58

3.3 ELABORAÇÃO DA DIETA HIPERCALÓRICA MISTA

Foram utilizadas dez gramas da ração padrão acrescidas de lipídios na forma de margarina, proteína na forma de albumina, além de carboidrato na forma de açúcar refinado.

Este grupo recebeu 98,5 calorias, sendo 58 Kcal da ração padrão e as restantes 40,58 Kcal, distribuídas com a adição dos macronutrientes descritos na tabela 4.

Os ingredientes receberam a adição de 10% de seu volume de água, para que pudessem ser moldados na forma de péletes e em seguida foram encaminhados para o forno aquecido a 60°C até que se tornassem firmes.

TABELA 4. Informação nutricional da ração do GHM.

Macronutriente	Porcentagem (%)	Kcal
Lipídio	12,34	12,34
Proteína	22,6	22,54
Carboidrato	64,8	63,7
Total	100	98,5

3.4 ELABORAÇÃO DA DIETA HIPERCALÓRICA HIPERGLICÍDICA

Foi oferecido a este grupo dieta de 98,5 Kcal diárias, sendo divididas em cinco gramas de ração padrão e 17,37 gramas de açúcar refinado, contendo 29 e 69,5 calorias respectivamente, além de 10% de seu volume de água (Tabela 5).

A mistura homogeneizada foi ao forno com temperatura de 60°C por tempo suficiente para que ocorra evaporação da água adicionada e obtenha consistência firme.

TABELA 5. Informação nutricional dieta do GHG.

Macronutriente	Porcentagem (%)	KCal
Lipídio	3,23	3,19
Proteína	7,06	6,96
Carboidrato	89,70	88,35
Total	100	98,5

3.5 ELABORAÇÃO DA DIETA HIPERCALÓRICA HIPERLIPÍDICA

Este grupo recebeu dieta de 98,5 calorias diárias sendo composta por 12,87 gramas de margarina adicionada em cinco gramas da ração padrão, contendo em sua composição gordura trans, além dos outros valores conferidos na tabela 6.

TABELA 6. Informação nutricional da dieta do GHL.

Macronutriente	Porcentagem (%)	Kcal
Lipídio Total	73,77	72,67
Gordura Trans	20,68	15,03
Gordura Saturada	22,22	16,2
Proteína	7,10	6,99
Carboidrato	19,13	18,85
Total	100	98,5

3.6 RESUMO DAS CALORIAS FORNECIDAS POR DIETA

A tabela abaixo demonstra a diferença percentual dos macronutrientes das dietas modificadas e da dieta controle. Torna-se visível as diferenças calóricas entre o grupo controle e os demais, ficando estes com valor superior a aproximadamente 40 Kcal ao dia. Já os grupos com dieta acrescida de macronutrientes receberam o mesmo valor energético diário.

TABELA 7. Teor calórico total (%) da dieta padrão e das dietas modificadas.

Macronutrientes	Dieta GC	Dieta GHM	Dieta GHG	Dieta GHL
% LIP	11	12,6	3,23	73,77
% PTN	24	22,6	7,06	7,10
% CHO	65	64,8	89,70	19,13
Total Kcal	58	98,5	98,5	98,5

3.7 ACOMPANHAMENTO EXPERIMENTAL

Ocorreu avaliação clínica diária dos grupos para detectar eventual presença de vômito, alterações nas fezes, como consistência e presença de gordura aparente, além de alteração na ingestão alimentar.

Os animais foram pesados semanalmente através da balança Filizola® BP6, com aferição até 6 kg, proveniente do Biotério Central da PUCPR.

A verificação da adesão dos grupos às dietas padrão e modificada foi realizada através da quantidade de ração ingerida por cada grupo, após pesagem, diária no período da manhã, das sobras no alimentador (APÊNCICE A).

Ao final das oito semanas de experimento, os ratos foram pesados e sofreram eutanásia, através de dose letal de pentobarbital (120 mg/kg) por via intraperitoneal e a seguir foram retiradas as amostras para análise.

Para análise bioquímica de TGO e TGP foram coletados dois ml de sangue por punção cardíaca transtorácica, realizada com os animais em decúbito dorsal e com seringa de 10 mL e agulha de 25 x 8 mm. As amostras foram acondicionadas em tubos plásticos heparinizados e centrifugados á velocidade de 3000 rpm, por 10 minutos, em temperatura de 4°C. A mensuração foi realizada no Laboratório Universitário Cajuru. Os índices de TGO e TGP foram selecionados para auxiliar no diagnóstico de doença hepática conforme conclusão de sua eficácia pelos autores ZAMIN *et al.* (50).

O fígado foi retirado para pesagem e análise de presença de gordura, como utilizado por ELLIOTT *et al.* (39) e após, comparado os resultados encontrados nos grupos controles com os do grupo padrão.

A contagem do número de células adiposas hepáticas e a área foram verificadas através de análise microscópica no Laboratório de Patologia Experimental da PUCPR. Foi realizado através do preparo do tecido hepático em lâminas, conforme padrão do Laboratório (ANEXO D), com posterior ajuda do software Image ProPlus 4.5, conectado ao microscópio Olympus BX50 (20 de Zoom), para realização das fotos dos tecidos, contagem do número e aferição da área dos adipócitos presentes em cada grupo. O local da lâmina escolhido para

contagem do número de adipócitos foi aleatório, excluindo apenas campos com vacúolos estourados e/ou com presença de grandes vasos.

Para análise da adiposidade, imediatamente após sacrifício, os tecidos adiposos mesentérico (MES), retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI) foram pesados, como em estudo semelhante, por Moreira & Mancini-Filho (51).

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a comparação dos grupos em relação às variáveis do estudo foi usada à análise de variância com um fator ou, quando apropriado, o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Comparações múltiplas entre os grupos foram feitas pelo teste LSD ou pelo teste de Mann-Whitney. Na análise do peso do fígado o peso do animal após oito semanas foi incluído como co-variável. A variável número de células de gordura foi previamente submetida à transformação logarítmica. A condição de normalidade foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilks. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Nas comparações múltiplas dos grupos feitas pelo teste de Mann-Whitney, o nível de significância foi corrigido por Bonferroni ($p < 0,017$). Os dados foram analisados usando-se o programa computacional Statistica v.7.

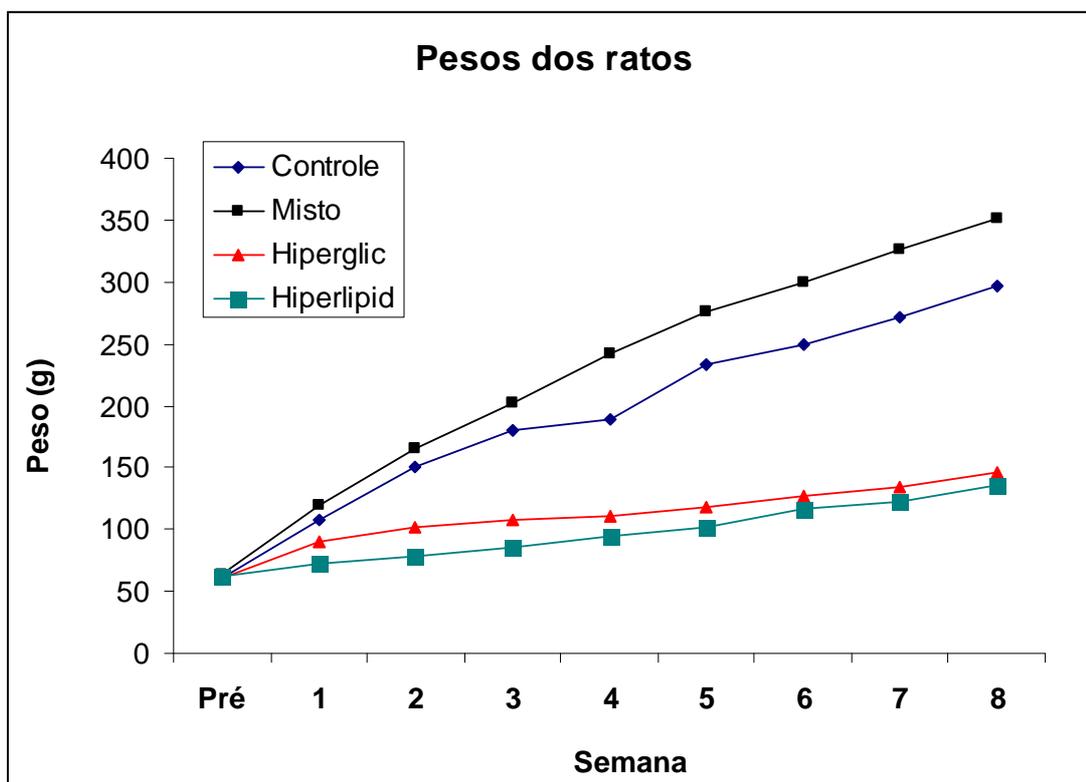
4. RESULTADOS

4.1 MASSA CORPORAL

Na tabela 8 (APÊNDICE B) são apresentadas, para cada grupo, estatísticas descritivas da massa corporal dos ratos em cada uma dos momentos de avaliação, desde o tratamento até a 8ª semana.

É comparada a massa corporal entre os grupos durante o período de indução da obesidade no gráfico 1.

GRÁFICO 1. Comparação da massa corporal entre os grupos estudados.



O GHM apresentou maior valor médio ponderal ao final do período experimental, aproximadamente 350g, ou seja, 21,75% superior ao GC, enquanto o GHL e GHG mantiveram o peso bem inferior, 136g e 146g, respectivamente.

Considerando-se o momento pré tratamento, testou-se a hipótese nula de que as médias dos pesos fossem iguais nos 4 grupos, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um dos grupos tinha média diferente dos demais. O resultado do teste indicou a não rejeição da hipótese nula ($p=0,860$). Desta forma, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos em relação ao peso inicial médio.

Testou-se, após 8 semanas de tratamento, a hipótese nula de que as médias dos pesos são iguais nos 4 grupos, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um dos grupos tem média diferente dos demais. O resultado do teste indicou a rejeição da hipótese nula ($p<0,001$). Desta forma, foi encontrada diferença significativa entre os grupos em relação ao peso após 8 semanas. Na tabela 9 são apresentados os valores de p das comparações entre os grupos dois a dois, após 8 semanas de trabalho.

TABELA 9. Comparação dos valores p entre os grupos.

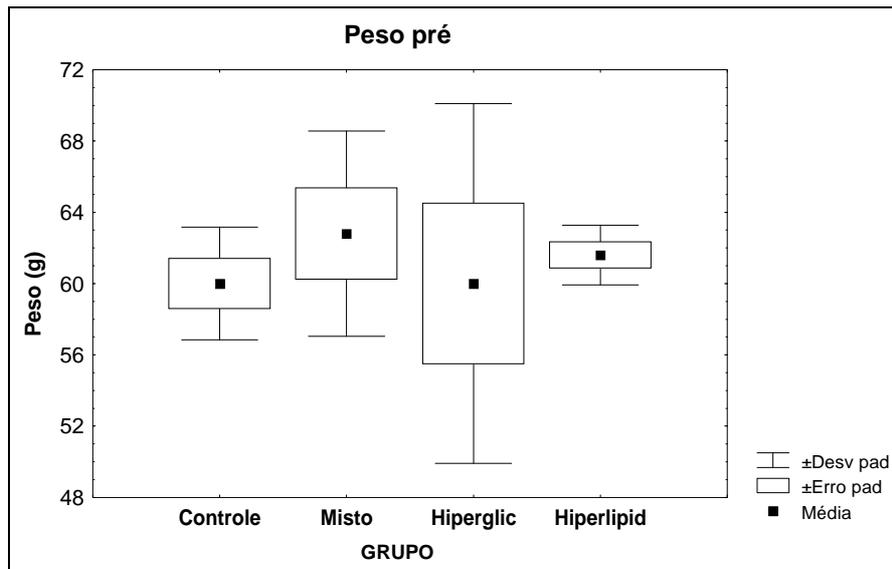
Grupos comparados	Valor de p^*
Controle x Hiperglic	<0,001
Controle x Hiperlipid	<0,001
Controle x Misto	<0,001
Hiperglic x Hiperlipid	0,277
Hiperglic x Misto	<0,001
Hiperlipid x Misto	<0,001

(*) Teste LSD, $p<0,05$

Observa-se que, após 8 semanas de tratamento, não foi encontrada diferença significativa entre o grupo que recebe dieta hiperglicídica e o grupo que recebe dieta hiperlipídica. Nas demais comparações dos grupos dois a dois foram encontradas diferenças significativas.

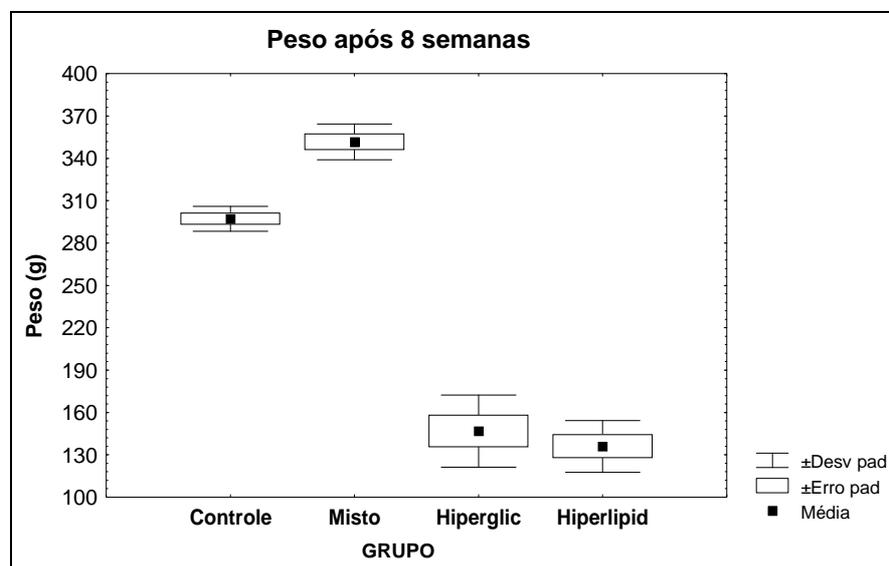
O gráfico 2 apresenta os valores ponderais dos grupos analisados no início da indução da obesidade e fornecimento das rações modificadas.

GRÁFICO 2. Registro da massa corporal dos animais no início da pesquisa.



A média encontrada de peso corpóreo inicial entre os grupos é 61.1 gramas.

GRÁFICO 3. Comparação da massa corporal entre os grupos ao final do experimento.



Sendo o GC considerado a referência do aumento de peso, fez-se sua comparação com os outros grupos, notando-se assim, grandes variações entre os grupos com dietas modificadas. Tendo o GHM atingido peso superior a 21,75% e os GHL e GHG tendo valores ponderais inferiores em 68,7% e 63,41% respectivamente em relação grupo controle (tabela 10).

TABELA 10. Comparação da massa corporal entre os grupos com dietas modificadas e o grupo controle.

GRUPOS	%MASSA CORPORAL
GC/GC	100,00%
GHM/GC	121,75%
GHG/GC	36,59%
GHL/GC	31,37%

A ilustração 1 demonstra visão da variação de peso entre os grupos.

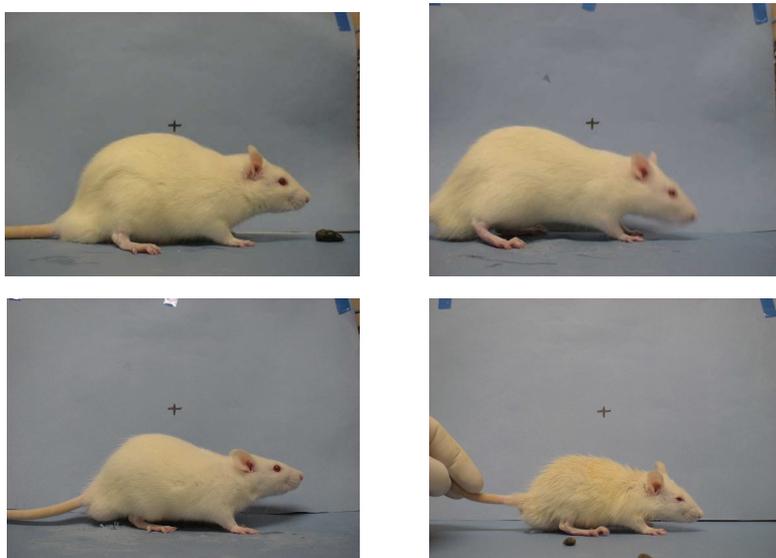


ILUSTRAÇÃO 1. Fotos dos animais do grupo, GHM, GC, GHG e GHL, respectivamente.

4.2 ANÁLISES DAS SOBRAS

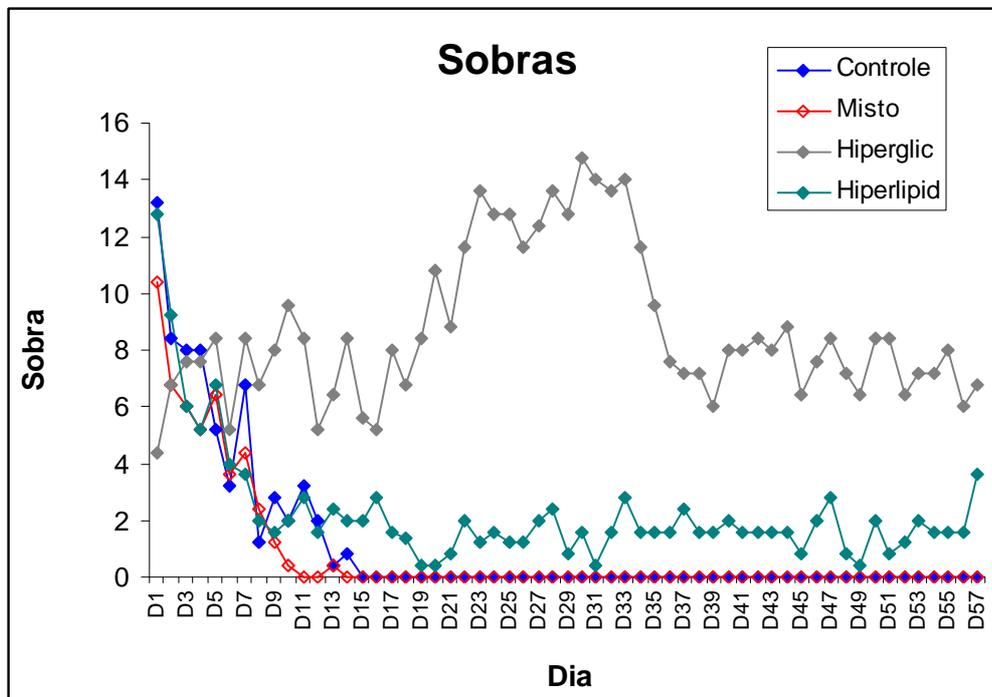
Para cada animal incluído no estudo, foram calculadas as médias das sobras em cada semana de acompanhamento. Em seguida, para cada semana, testou-se a hipótese nula de que os resultados das sobras médias são iguais para os 4 grupos, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um dos grupos tem resultados diferentes dos demais.

Encontra-se na Tabela 11 (APÊNDICE C), os valores referentes às sobras semanais de ração por grupo estudado. Conforme tabela 11, com exceção da primeira semana do fornecimento da dieta, em todas as semanas do estudo, as sobras semanais de ração foram significativas.

A tabela 12 (APÊNDICE D), demonstra os resultados referentes aos valores de p entre os grupos.

Quando comparadas as sobras semanais de ração entre os grupos com dieta modificada com o GC, observa-se que apenas o GHG apresenta-se com valores significativos.

GRÁFICO 4. Valores médios (g) das sobras de ração por grupo.



4.3 AVALIAÇÃO DE GORDURA: TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL (EPI), TECIDO ADIPOSEO MESENTÉRICO (MES) E TECIDO ADIPOSEO RETROPERITONIAL (RET)

Na tabela 13 são apresentadas estatísticas descritivas das variáveis e os valores de p dos testes estatísticos.

TABELA 13. Comparação dos valores de tecido adiposo EPI em gramas.

Variável	Grupo	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
EPI	Controle	5	3,726	3,72	3,18	4,25	0,52	<0,001
	Misto	5	5,126	4,95	4,61	5,65	0,42	
	Glic	5	1,586	1,55	1,11	2,37	0,48	
	Lipid	5	1,454	1,53	1,05	1,65	0,25	

(*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$

O GHM obteve peso do tecido adiposo EPI acima do GC em 137,6%, sendo encontrados menores valores nos GHG e GHL, respectivamente.

A comparação dos valores encontrados após aferição do tecido adiposo RET está descrita na tabela 14.

TABELA 14. Comparação do tecido adiposo RET em gramas.

Variável	Grupo	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
RET	Misto	5	5,694	5,09	4,44	7,95	1,43	<0,001
	Glic	5	2,264	2,09	1,57	3,1	0,65	
	Lipid	5	2,008	2,19	0,94	2,5	0,63	

(*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$

Os menores valores de tecido adiposo RET foram vistos nos grupos que apresentaram ao final o menor valor ponderal (GHL e GHG), sendo que nos grupos que atingiram o maior peso corporal (GHM e GC), estes mesmos índices chegaram a dobrar. O GHM obteve maior peso, sendo superior ao GC em 134,5%.

Para a variável MES, testou-se a hipótese nula de que os resultados são iguais nos 4 grupos, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um grupo

tem resultados diferentes dos demais. Na tabela 15 apresentam-se estatísticas descritivas das variáveis e o valor de p do teste estatístico.

TABELA 15. Peso tecido adiposo MES em gramas.

Variável	Grupo	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p^*
MÉS	Controle	5	2,576	2,77	2,23	2,83	0,31	0,002
	Misto	5	3,378	3,26	2,99	3,95	0,42	
	Glic	5	1,2	1,08	1,06	1,62	0,24	
	Lípid	5	1,962	2,47	0,48	2,75	0,99	

(*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$

O GHM novamente apresentou valor maior de tecido adiposo MES, sendo superior ao GC em 131,1% e o GHG manteve-se abaixo de todos os grupos com valor em gramas de 1,2, ou seja, 46,6% inferior ao GC.

Visualiza-se através da tabela 16, a comparação dos grupos dois a dois.

TABELA 16. Valores de p das comparações de EPI, MES e RET entre os grupos.

Grupos comparados	EPI	MES	RET
Controle x Hiperglic	<0,001	0,222	0,002
Controle x Hiperlípid	<0,001	0,0079	0,001
Controle x Misto	<0,001	0,0079	0,016
Hiperglic x Hiperlípid	0,635	0,222	0,641
Hiperglic x Misto	<0,001	0,0079	<0,001
Hiperlípid x Misto	<0,001	0,0079	<0,001

(*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,008$ (corrigido por Bonferroni)

4.4 PESO DO FÍGADO

Na tabela 17 são apresentadas estatísticas descritivas da massa do fígado dos ratos em cada um dos grupos.

TABELA 17. Comparação entre os grupos em relação à média em gramas da massa do fígado dos animais.

Grupo	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Controle	5	11,99	11,43	11,09	14,08	1,24
Misto	5	14,45	14,1	13,67	15,29	0,71
Hiperglic	5	7,76	7,98	6	9,47	1,43
Hiperlip	5	5,66	5,81	4,7	6,62	0,82

Testou-se a hipótese nula de que as médias das massas do fígado são iguais nos 4 grupos, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um dos grupos tem média diferente dos demais. Para esta análise o peso do animal após 8 semanas foi considerado como co-variável. O resultado do teste indicou a rejeição da hipótese nula ($p=0,044$). Desta forma, foi encontrada diferença significativa entre os grupos em relação ao peso do fígado. Na tabela 18 são apresentados os valores de p das comparações dos grupos 2 a 2.

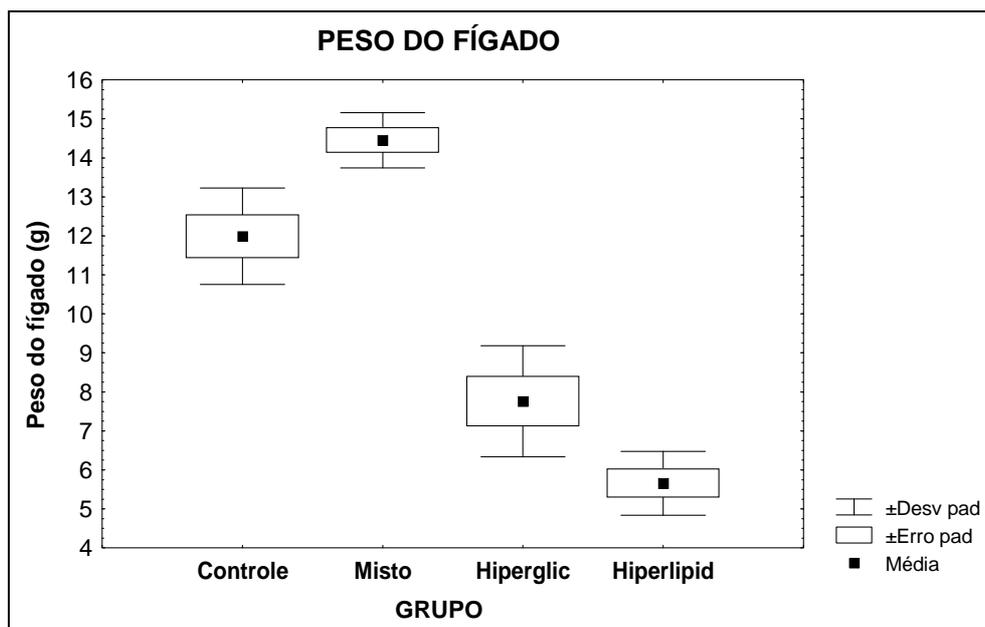
TABELA 18. Valores de p das comparações dos grupos 2 a 2 em relação à massa do fígado.

Grupos comparados	Valor de p^*
Controle x Hiperglic	<0,001
Controle x Hiperlipid	<0,001
Controle x Misto	<0,001
Hiperglic x Hiperlipid	0,002
Hiperglic x Misto	<0,001
Hiperlipid x Misto	<0,001

(*) Teste LSD, $p<0,05$

Observa-se que foi encontrada diferença significativa entre os grupos em todas as comparações destes dois a dois.

GRÁFICO 5. Média da massa do fígado dos grupos ao final da pesquisa.



O gráfico 5 mostra as diferenças ponderais do fígado encontradas entre os grupos estudados, conferindo novamente o maior valor ao GHM (11,99g) e o menor ao GHL (5,65g) e GHG (7,76g) respectivamente.

4.5 NÚMERO DE CÉLULAS DE GORDURA

Na tabela 19 são apresentadas estatísticas descritivas do número de células de gordura em cada grupo, sendo o grupo controle representando o grupo ideal, ou seja, alimentado de forma a estar em total equilíbrio com as funções do organismo e neste caso, deve-se considerá-lo como referencial em números de células adiposas hepáticas.

TABELA 19. Comparação do número de células adiposas hepáticas por grupo.

Grupo	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Controle	5	390,07	291,67	195,33	919,00	299,54
Misto	5	189,00	205,33	75,67	273,33	76,14
Hiperglic	5	956,00	880,67	786,00	1276,33	200,46
Hiperlip	5	763,20	855,67	430,67	928,00	200,14

O GHG apresentou o maior número de células adiposas hepáticas e em seguida o GHL, com 950 e 760 respectivamente. Enquanto o GHM ficou 48,37% inferior ao GC. Observa-se ainda que o GHG, apresenta-se superior a 5 vezes o valor do GHM.

A ilustração 2, com imagens obtidas das lâminas com cortes dos fígados de cada grupo, mostra a diferença visual da quantidade de células de gordura hepática, expressas através dos grandes vacúolos brancos.

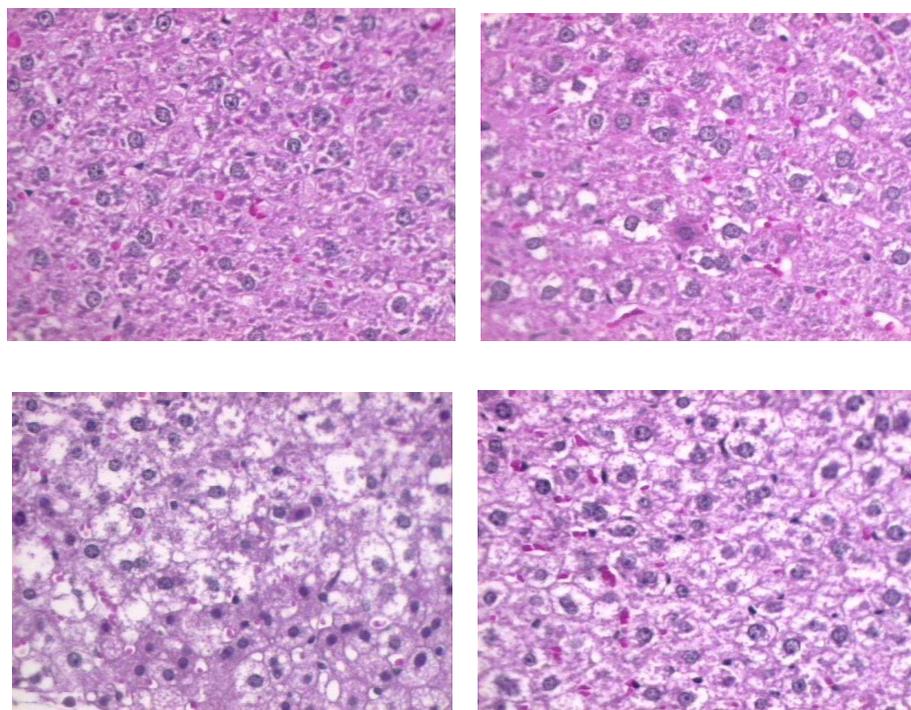


ILUSTRAÇÃO 2. Variação de células adiposas hepáticas de cada grupo; GC, GHM, GHG e GHL, respectivamente.

Testou-se a hipótese nula de que as médias do número de células de gordura são iguais nos 4 grupos, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um dos grupos tem média diferente dos demais. O resultado do teste indicou a rejeição da hipótese nula ($p < 0,001$). Desta forma, foi encontrada diferença significativa entre os grupos em relação ao número de células de gordura. Na tabela 20 são apresentados os valores de p das comparações dos grupos 2 a 2.

TABELA 20. Valores de p das comparações dos grupos 2 a 2 em relação ao número de células adiposas hepáticas.

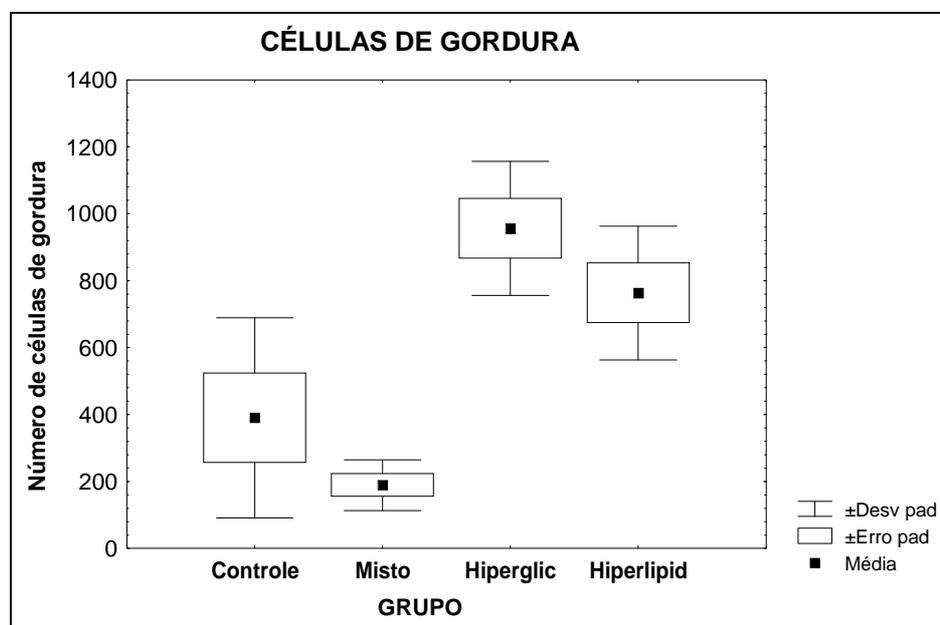
Grupos comparados	Valor de p^*
Controle x Hiperglic	0,002
Controle x Hiperlipid	0,010
Controle x Misto	0,034
Hiperglic x Hiperlipid	0,390
Hiperglic x Misto	<0,001
Hiperlipid x Misto	<0,001

(*) Teste LSD, $p < 0,05$

Observa-se que foi encontrada diferença significativa entre os grupos em todas as comparações destes dois a dois, com exceção da comparação dos grupos hiperglicídico e hiperlipídico.

O gráfico 6 mostra os valores do número encontrado de células de gordura no fígado dos grupos estudados.

GRÁFICO 6. Comparação entre o número de células adiposas hepáticas por grupo.



4.6 ÁREA DA CÉLULA DE GORDURA HEPÁTICA

Na tabela 21 são apresentadas estatísticas descritivas da área das células de gordura hepática por grupo.

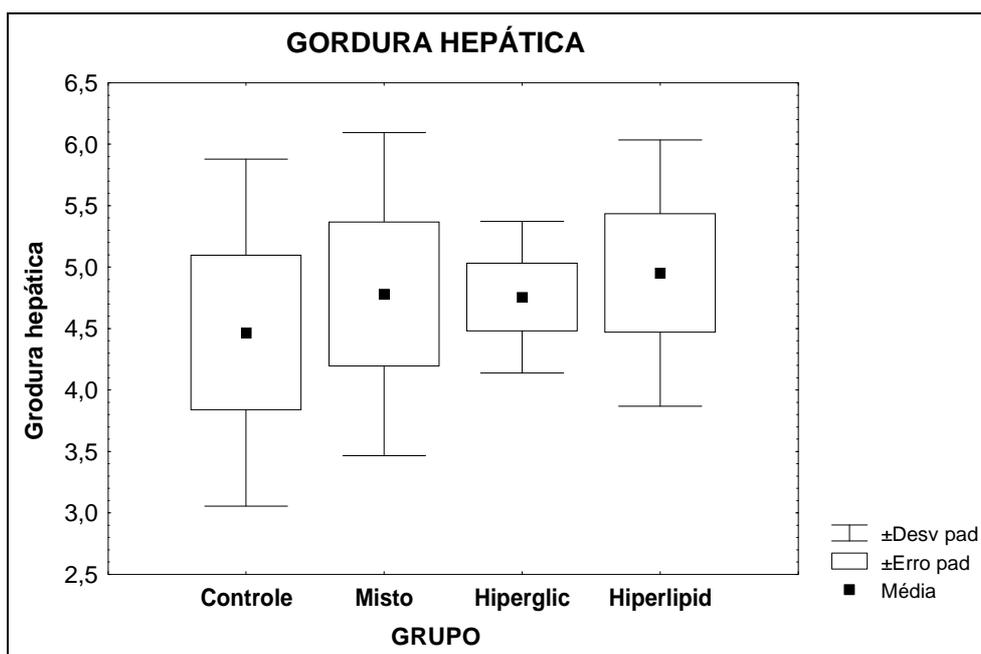
TABELA 21. Valores comparativos por grupo da área das células adiposas hepáticas (micrômetro).

Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Controle	5	4,47	5,27	2,08	5,41	1,41
Misto	5	4,78	4,34	3,39	6,85	1,31
Hiperglic	5	4,76	4,73	4,13	5,66	0,62
Hiperlip	5	4,95	4,66	3,81	6,59	1,08

Testou-se a hipótese nula de que as médias das áreas das células de gordura são iguais nos 4 grupos, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um dos grupos tem média diferente dos demais. O resultado do teste indicou a não rejeição da hipótese nula ($p=0,926$). Desta forma, não podemos afirmar que existe diferença significativa entre os grupos em relação ao tamanho das células de gordura hepática entre os grupos estudados.

O gráfico 7 mostra os valores comparativos da área das células de gordura do fígado dos animais.

GRÁFICO 7. Comparação por grupo da área das células de gordura do fígado (micrômetro).



4.7 ANÁLISE BIOQUÍMICA

Na tabela 22 são apresentados valores das análises bioquímicas (TGO/TGP) realizadas nos animais estudados.

TABELA 22. Resultados das análises bioquímicas (TGO e TGP) por grupo ao final do período.

Variável	Grupo	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
TGO	Controle	5	61,00	61	55	69	6,16	
	Hiperglic	5	175,00	100	65	376	138,46	
	Hiperlip	5	240,80	158	82	682	248,90	
	Misto	5	67,60	70	62	71	4,28	0,005
TGP	Controle	5	47,20	46	41	58	6,83	
	Hiperglic	5	55,20	48	33	83	21,03	
	Hiperlip	5	124,20	129	91	146	21,02	
	Misto	5	50,80	50	39	59	7,66	0,011

(*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$

O GHIL obteve valores mais relevantes de TGP/TGO alcançando 240,8mg/dl e 124,2mg/dl respectivamente.

Para as variáveis que apresentaram diferença significativa, os grupos foram comparados dois a dois. Na tabela 23 estão os valores de p dessas comparações.

TABELA 23. Valores de p das comparações entre os grupos que apresentam diferença significativa.

Grupos comparados	TGO	TGP
Controle x Hiperglic	0,016	0,841
Controle x Hiperlipid	0,0079	0,0079
Controle x Misto	0,095	0,421
Hiperglic x Hiperlipid	0,548	0,0079
Hiperglic x Misto	0,095	1
Hiperlipid x Misto	0,0079	0,0079

(*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,008$ (corrigido por Bonferroni)

Os valores de p em **negrito** indicam as comparações em que houve diferença significativa ($p < 0,008$, correção de Bonferroni).

Através dos gráficos que seguem abaixo, podem-se observar as diferenças bioquímicas entre os grupos comparando assim estes valores com a dieta recebida.

GRÁFICO 8. Níveis de TGO por grupo.

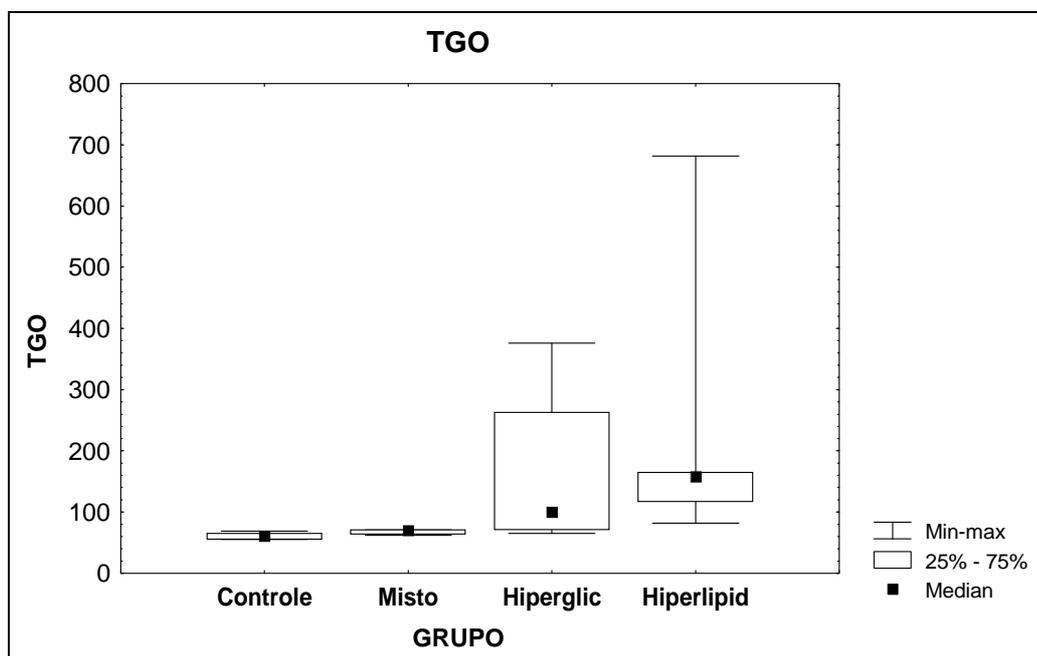
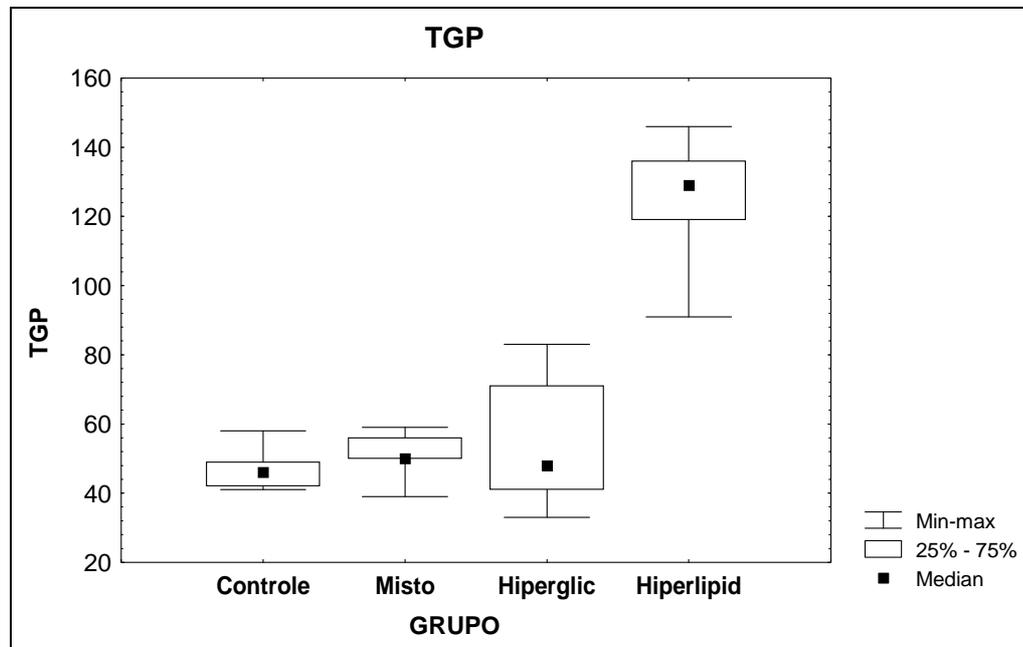


GRÁFICO 9. Níveis de TGP por grupo.



O GC e GHM mantiveram valores baixos e parecidos, inferiores a 70 mg/dl, sendo constatado o maior índice no GHL, 240,8 mg/dl.

5. DISCUSSÃO

Este estudo possibilitou melhor entendimento das dietas que podem ser utilizadas para engorda, seu modo de preparo e as conseqüências causadas á saúde, de acordo com o tipo principal de macronutriente utilizado.

O objetivo inicial do experimento foi atingido, obtendo resultados específicos conseqüentes de cada dieta ingerida como alterações bioquímicas, ponderais e de armazenamento de gordura corporal para cada grupo isoladamente e em comparação ao controle, considerando-o como grupo ideal e saudável, mantido propriamente para agir como comparativo a todos os parâmetros requisitados na metodologia como relevantes.

5.1 MASSA CORPÓREA DOS ANIMAS E CONSUMO DE RAÇÃO

As elaborações das dietas modificadas tiveram com base principal as mudanças ocorridas na alimentação atual, com desequilíbrio na distribuição dos macronutrientes através do aumento de alimentos como carboidratos e açúcares refinados, gorduras *trans* e saturadas, além da diminuição dos alimentos ricos em proteínas magras e fibras.

Em relação ao consumo de ração, foram encontrados valores das sobras considerados significativos a partir da segunda semana de pesquisa quando comparados entre os grupos e especialmente entre GC e GHG, podendo ser explicado pela alteração na consistência da ração do GHG, o qual teve em sua composição grande quantidade de açúcar adicionado, o qual tende a cristalizar e endurecer conforme tempo de exposição. Contudo, nenhum animal apresentou sinal de hiperfagia, sendo assim semelhante ao achado por Kretschmer *et al.* (52).

Os animais iniciaram com peso corporal médio de 61,1 gramas. Foram mantidos em indução de ganho de peso por um período de oito semanas, tempo suficiente para que os animais alcançassem o peso equivalente ao de um animal

adulto, 250 a 300 gramas, sendo semelhante ao tempo estipulado por Sabarense & Filho (53), Santos *et al.* (54), Raab (55).

Segundo Ferreira (56) & Estadella *et al.* (57) são conflitantes os resultados referentes ao ganho ponderal em ratos alimentados com dietas hipercalóricas. Provavelmente, as diferenças referentes ao ganho de massa corporal encontradas nos trabalhos científicos sejam influenciadas pelo tempo de manutenção do experimento e fornecimento da dieta. Neste projeto observaram-se as diferenças relevantes da massa entre os grupos, de acordo com a dieta fornecida.

Pode-se afirmar que houve diferença significativa de peso entre os grupos em questão, com exceção apenas quando comparados os GHG e GHL. Observou-se que os animais do GHL e GHG mantiveram seus pesos abaixo do grupo controle, o qual foi considerando referência em ideal de ganho de peso, pode-se afirmar que a dieta elaborada para o GHM obteve valor superior em 21,75% ao considerado saudável, levando ao excessivo acúmulo de gordura corporal nestes animais, sendo este o grupo que apresentou maior ganho de peso ao final das oito semanas da indução da obesidade.

Dados inversos ao descritos por Duarte *et al.* (43), em estudo com ratos alimentados com dieta hipercalórica hiperlipídica por período de 15 semanas, o qual resultou em peso final superior ao apresentado pelo grupo controle em 88.34%. Apenas condizente ao fato relatado de não terem encontrado sinal de hiperfagia no grupo alimentado com dieta gordurosa.

Em estudo com administração de dietas modificadas, o grupo que recebeu dieta hiperlipídica obteve peso superior ao grupo com dieta hiperglicídica em 27% (58). Discordando assim dos valores encontrados no presente estudo, onde o grupo com dieta hiperlipídica obteve peso inferior ao grupo com dieta hiperglicídica em 5%, mesmo tendo sido observada significativa sobra de ração neste grupo.

Os autores Pereira *et al.* (4) acreditam que o desenvolvimento da obesidade é possível mesmo sem aumento da quantidade de alimentos ingeridos, pois mudanças na composição da dieta ou mesmo de seus nutrientes podem alterar a eficiência na utilização do alimento, e conseqüentemente aumentarem os estoques de gordura corporal por caloria consumida. Na prática, o aumento da

densidade da dieta pode estar relacionado ao aumento do total calórico ingerido ou aumento da ingestão de calorias de um determinado macronutriente, resultando no ganho de peso e obesidade. Essa relação explica de forma eficaz o motivo da real engorda do GHM nesta pesquisa.

Duarte (59), constatou ao exercitar ratos em treinamento de natação alimentados com dietas hipercalóricas, que a interação destas dietas com atividade física pode contribuir para a prevenção da obesidade e dislipidemia. Após este e outros relatos o presente projeto teve como regra o sedentarismo para que o objetivo de indução da obesidade fosse atingido sem interferências.

5.2 ARMAZENAMENTO DE GORDURA CORPORAL

Os mamíferos são capazes de estocar facilmente o excesso de calorias consumidas e não requisitadas para suprir as necessidades metabólicas imediatas como lipídios, na forma de triacilgliceróis (TAG), proteínas e carboidratos (glicogênio), lipídios, por serem hidrofóbicos podem estocar grandes quantidades de energia dispensando a participação de água como solvente, sendo o tecido adiposo o maior reservatório energético do organismo (60).

Ahina & Flier (60) ressaltam que os adipócitos são as únicas células especializadas no armazenamento de TAG em seu citoplasma sem que isso seja agressivo a sua integridade funcional. Essas células possuem todas as enzimas e proteínas reguladoras necessárias para sintetizar ácidos graxos e estocar TAG em períodos que a oferta de energia é abundante, e para mobilizá-los pela lipólise quando há déficit calórico. Assim pode-se entender e explicar o motivo fisiológico das nada sucintas diferenças ponderais e de acúmulo de tecido adiposo nos GHM e também baixo peso nos GHL e GHG, na forma de estoque de energia e lipólise, respectivamente. Os resultados obtidos no GHG também explicam-se pela rejeição ao consumo da ração, confirmada através das relevantes sobras, tendo alterações metabólicas de uma animal subnutrido.

Parks (61) relata que é através do processo biológico denominado de lipogênese, que os carbonos provenientes dos carboidratos (glicose, lactose, frutose etc) são transformados em lipídios (ácidos graxos). Sendo este processo altamente ativo em roedores. Estudos confirmam este relato com indícios que dietas hiperglicídicas estimulam consideravelmente a lipogênese, aumentando a expressão das enzimas lipogênicas (62).

A glicose, por ser convertida em Acetil-CoA através da via glicolítica, estimula a lipogênese pelo fato de ser substrato deste processo, além da glicose agir na liberação da insulina, a qual, provavelmente é o fator hormonal mais importante na lipogênese, ativando-a de maneira muito potente, aumentando a captação de glicose pelas células adiposas (63). Este fato não condiz com os achados neste estudo, pois os animais alimentados com alto teor de açúcar mantiveram-se com baixo peso, cerca de 70% inferior ao GC, tendo como hipótese principal o relevante valor ponderal da sobra de ração pelos animais deste grupo.

O acúmulo de gordura na região abdominal tem sido relatado como fator determinante no desenvolvimento da resistência a insulina, e por este tecido ser metabolicamente mais ativo do que o tecido adiposo periférico (64).

O tecido adiposo epididimal (EPI) é um tecido adiposo branco, o qual possui inúmeras e importantes funções no organismo, é considerado um excelente isolante térmico e pela sua distribuição mais abrangente, incluindo derme e tecido subcutâneo, tem papel importante na preservação da temperatura corporal. Pela sua capacidade de armazenar energia, cerca de 200.000-300.000 Kcal em indivíduos adultos não-obesos e de fornecê-la quando necessário, assume o *status* de mais importante sistema tamponante para o balanço energético (65).

Estadella *et al.* (57) & Duarte (59), encontraram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica mostram, a partir de três semanas um aumento no teor de tecido adiposo epididimal (EPI) e retroperitônio (RET), com maior tendência a distúrbios no perfil lipídico. Discordando dos resultados obtidos a partir deste estudo, o qual mostrou diminuição destes tecidos adiposos quando comparado ao GC em 38,9% e 47,2% respectivamente.

O GHM teve o maior valor de tecido adiposo MES, RET e EPI. Obteve valor de EPI 1,3 vezes maior em relação ao GC, sendo este superior ao GHG e GHL em 2,3 e 2,5 vezes, respectivamente. Referindo-se ao valor de RET, o grupo em questão apresentou-se superior ao GHL e GHG, chegando ao dobro de seus valores, ou seja, 5,69g. Tratando-se do tecido adiposo mesentérico o GHM atingiu 3,37g, valor 131% superior ao GC. Valores que discordam dos achados por Duarte *et al.* (43), onde ratos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram aumento significativo dos tecidos adiposos EPI e RET.

Silva *et al.* (23), em estudo com administração de dieta acrescida em gordura hidrogenada (*trans*) por período de 45 dias, encontraram valor de EPI de 1,34g, podendo ser comparado ao GHM do presente projeto, o qual também recebeu adição deste macronutriente e apresentou valor superior ao estudo em questão, chegando a 5,12g, sendo este o maior índice de tecido adiposo epididimal entre os grupos analisados. Não é possível fazer a mesma comparação ao GHL, pois este, praticamente, recebeu a gordura hidrogenada como totalidade na dieta e não apenas na forma de um acréscimo.

Após analisar os resultados referentes ao aumento de peso e de acúmulo de gordura corporal dos animais do grupo com dieta hipercalórica mista, acredita-se que tenha ocorrido marcante aumento do volume de células adiposas que acompanharam o aumento de peso, pois essas alterações são comumente conseqüentes da obesidade em todos os períodos de crescimento com ênfase na fase inicial. Mas já é entendido que com o inverso, ou seja, a perda de peso corporal, ocorre à diminuição do tamanho das células de gordura, mas sem alteração no número.

5.3 MASSA E PRESENÇA DE GORDURA NO FÍGADO

Em concordância com o maior peso corporal, EPI, RET e MES, o grupo que recebeu dieta hipercalórica mista também apresentou maior peso do fígado, apresentando o valor de 14,45g. O GC obteve o valor de 11,99g e os GHG e GHL de 7,76g e 5,66g respectivamente.

Em estudo com fornecimento de dieta hipercolesterolêmica por 28 dias, Machado *et al.* (14) encontraram peso do fígado destes animais sendo superior ao grupo controle em 78.14% . Ao contrário do índice resultante neste estudo, o qual apresentou valor inferior em 211.83% quando comparado ao GC.

Silva *et al.* (23) em pesquisa experimental semelhante, com fornecimento de dieta acrescida de gordura hidrogenada a 6%, semelhante à dieta recebida pelo GHM, encontraram valor do peso do fígado dos animais sendo inferior ao encontrado neste projeto, 7,67g e 11,99g respectivamente.

Quando compara-se peso do fígado com presença de esteatose pode-se observar que a relação é inversa, ou seja, os GHG e GHL especialmente, apesar de possuírem o órgão mais leve, tiveram acúmulo expressivo de células de gordura, enquanto o grupo com maior peso do fígado (GHM) obteve valor bem inferior, sendo similar ao GC.

Com os dados resultantes da indução da obesidade com vários tipos de dieta, pode-se afirmar que o peso do fígado não foi fator determinante de risco para esteatose e sim a presença de gordura. Ao analisar histologicamente as conseqüências hepáticas por grupo, observaram-se significativa diferença no número de células adiposas hepáticas presentes nos GHG e GHL, mesmo apresentando valores de peso corporal e peso do fígado relativamente inferior ao encontrado no GHM e GC.

Pode-se observar relevante diferença do número de células de gordura no fígado em relação ao grupo que recebeu dieta mista, o qual teve consumo total da dieta oferecida, comparado ao grupo hiperlipídico e especialmente hiperglicídico, sendo este o único grupo no qual foi encontrado valor significativo da sobra de ração.

Apesar do maior peso corpóreo e especificamente do fígado, o grupo que menor apresentou quantidade de células de gordura foi o GHM, contendo valor inferior a 51% quando comparado ao GC. Sendo encontrados valores superiores ao GC em 145% e 95% aproximadamente nos GHG e GHL, respectivamente, apontando estas dietas como risco para a homeostase hepática, resultando em grande acúmulo de gordura. Competem ao GHG também as conseqüências da subnutrição, observadas pela baixa massa corporal e visualmente pelo menor desenvolvimento, quando comparado aos outros grupos estudados.

Os dados do GHL mostram-se em concordância quando comparados a estudo semelhante, o qual utilizou animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica e encontrou um acúmulo expressivo de células adiposas no fígado destes animais, cerca de 110% superior ao seu grupo controle (66). Machado *et al.* (14), concluiu em estudo que dieta hiperlipídica promove fígado gorduroso em animais. Resultados em concordância com dados apresentados pelo GHL, mesmo com o fato deste grupo ter apresentado massa corporal inferior.

O GHL recebeu dieta contendo aproximadamente 20% de gordura trans, cerca de 10% inferior ao relatado pelos autores, Sabarense & Filho (53), os quais avaliaram o efeito da gordura parcialmente hidrogenada sobre a incorporação de ácidos graxos nos tecidos de ratos, ressaltaram que os ácidos graxos trans presentes no fígado dos ratos alimentados com a dieta modificada foram incorporados apenas através da dieta, pois os únicos capazes de sintetizar esse tipo de ácido graxo são os ruminantes e que o fígado é o local onde ocorre o maior acúmulo desta gordura, quando comparado a outros tecidos e órgãos, inclusive coração. Após esta informação pode-se justificar um dos possíveis motivos do grande número de células adiposas hepáticas encontradas no GHL.

Conforme Day & James (67), a presença de esteatose pode ser descrita pela resistência periférica à insulina e níveis séricos desse hormônio elevados, pois este quadro determina aumento do transporte de ácidos graxos do tecido adiposo para o fígado desenvolvendo a esteatose.

Kersten (68), descreve que o conteúdo hepático de TAG é determinado pelo balanço entre a captação, a oxidação e a síntese de ácidos graxos e sua

esterificação posterior, e secreção como triacilgliceróis. Sendo que o aumento ou diminuição da atividade de alguma destas vias tem um impacto sobre o acúmulo de gordura no fígado.

De acordo com Kalman & Saltzman (69), tratando-se de doenças hepáticas, as intervenções dietéticas melhoram de forma eficaz o estado nutricional, reduzindo complicações comumente encontradas nesta patologia. Desta forma, os grupos que apresentaram alterações no fígado e nos valores de referência para seu bom funcionamento, poderiam, caso fosse o objetivo do trabalho, recuperarem-se das alterações encontradas até o momento da eutanásia com a mudanças da dieta oferecida, sendo esta normocalórica e equilibrada em seus macronutrientes como carboidratos, lipídios e proteínas, ou seja, similar a dieta recebida pelo grupo controle.

Não houve diferença significativa em relação à área das células adiposas hepáticas quando comparados por grupos e com o controle.

Carneiro et al. (70) ressaltam a importância do aumento da adiposidade corporal no aparecimento de hipertensão, dislipidemia e intolerância a insulina. O GC e o GHM obtiveram resultados semelhantes em todos os parâmetros analisados, demonstrando assim que mesmo sendo uma dieta rica em calorias (GHM), se torna menos prejudicial ao organismo de forma similar à dieta controle, mantendo o equilíbrio corporal e os níveis plasmáticos referentes à função cardíaca, hepática e metabólica estáveis.

Pode-se afirmar que os animais com o maior peso corpóreo, no período de engorda descrito neste projeto, aparentemente propícios à piora da qualidade e expectativa de vida conseqüente das possíveis doenças associadas ao sobrepeso, mantiveram-se saudáveis e até o momento sem propensão aos fatores de risco para hipercolesterolemia e hepatopatologia, quando comparados ao GC e mais ainda ao GHL e GHG, os quais não se tornaram obesos ao final do período experimental.

5.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Discutem-se todos os resultados considerando o tempo estipulado de oito semanas de oferta das dietas modificadas, não sendo descartada a hipótese de que os grupos poderiam ter mudanças significativas concomitante com aumento do período experimental.

Foi significativa a diferença encontrada no GHL quando comparado ao grupo controle em relação aos níveis de TGO e TGP plasmáticos, atingindo 240 mg/dl e 124 mg/dl no GHL, ou seja, superior ao GC em 393% e 263% respectivamente.

Pode-se afirmar que o GHL obteve os níveis plasmáticos relacionados à função hepática com mudança expressiva, demonstrando que dieta rica em gordura sobrecarrega de forma significativa o funcionamento e a homeostase hepática. Mesmo apresentando peso inferior, essas informações obtidas conferem com os autores Machado *et al.* (66), onde encontraram níveis normais de colesterol sanguíneo, embora quantidade significativa de gordura acumulada no fígado de ratos induzidos a hipercolesterolemia.

Como consequência dos resultados obtidos após análise de peso corporal e tecidos adiposos por grupo, faz-se necessário melhor avaliação da composição corporal quando objetiva-se o peso ideal. A forma comumente utilizada para rápida mensuração do peso ideal baseia-se no cálculo do IMC, onde os únicos dados utilizados são peso e altura, excluindo estrutura óssea, quantidade de massa magra e gorda e líquidos corporais. Para que haja melhor entendimento do paciente, de seu estado nutricional e corporal é preciso avaliar mais detalhadamente, ou seja, através de avaliação completa da composição corporal, referenciando quantidade de tecido adiposo e músculo, além de dosar níveis sanguíneos pertinentes a cada caso clínico.

Ao GHM foi oferecida alimentação hipercalórica mista, ou seja, aumentada em calorias, mas com preservação da distribuição dos macronutrientes, tendo obtido maior valor em gramas de cada tecido adiposo analisado, da massa corporal e do fígado, no entanto ao analisar mais especificamente os danos causados ao fígado, através da contagem de células adiposas e transaminases

hepáticas (TGO e TGP), pode-se perceber que este foi o grupo que menor teve interferência no funcionamento hepático.

Subentende-se ao visualizar os GHG e GHL que uma alimentação com essas especificações contendo um grande aporte lipídico ou glicídico, tenha contribuído para uma efetiva perda de peso, seja pelo possível processo de lipólise (GHL) ou apenas pela falta da ingestão alimentar (GHG). Pode-se assim, comparar o GHL, o qual não apresentou interferência de peso pelo consumo de ração, às dietas utilizadas hoje em grande escala com a finalidade de redução ponderal, por exemplo, a dieta do Dr. Atkins, que tem como regra no período inicial a exclusão total de carboidratos, porém pode acarretar problemas à saúde.

O resultado final pode ser sim a perda de massa corporal, mas as conseqüências a médio e longo prazo desanimam, começando com aumento dos níveis sanguíneos de colesterol total e LDL, triglicerídeos, problemas cardiovasculares, além do aumento da produção pelo fígado de corpos cetônicos. Estes são liberados em grandes quantidades quando o corpo obtém a maior parte da sua energia através da queima de gordura, ocasionando cetoacidose que corresponde a uma acidez sanguínea excessiva.

Os valores encontrados confirmam o desequilíbrio corporal conseqüente do tipo de dieta ingerida ou rejeitada (GHG), não sendo dependente apenas do valor total do ganho de peso corporal e/ou quantidade de gordura armazenada. Deve-se levar em consideração, para melhor avaliação do estado nutricional, todas as análises disponíveis, como as bioquímicas e histológicas.

Este trabalho dará início a uma nova linha de pesquisa no Mestrado em Cirurgia da PUCPR, denominada Nutrição em Cirurgia.

6. CONCLUSÃO

O grupo que recebeu dieta mista obteve maior peso corpóreo, do fígado e dos tecidos adiposos EPI, RET e MES e apresentou a menor concentração de células de gordura quando comparado ao grupo controle.

Os grupos com dieta hiperglicídica e hiperlipídica apresentaram valores semelhantes entre si e significativamente inferior ao grupo controle em relação ao peso corporal, do fígado e dos tecidos adiposos, além de maior acúmulo de células adiposas, sendo no grupo hipercalórico hiperglicídico o maior índice encontrado, além destes animais terem sido o único grupo a apresentarem significativa sobra de ração.

Foram encontradas alterações relevantes das enzimas hepáticas, TGO e TGP, nos animais dos grupos hiperglicídico e hiperlipídico. O grupo misto apresentou resultados bioquímicos satisfatórios e similares aos encontrados no grupo controle.

Com isso, pode-se afirmar que a qualidade da dieta hipercalórica influencia nas alterações de peso e massa gorda, sendo necessária análise crítica da resposta metabólica ao consumo exagerado de um macronutriente específico e suas conseqüências em relação ao crescimento, armazenamento de gordura corporal e funções vitais.

REFERÊNCIAS

- (1) Halpern ZSC, Rodrigues MDB, Da Costa RF. Determinantes do controle do peso e apetite. *Rev Psiquiatr Clín.* 2004; 31(4):150-3.
- (2) Chen Y, Ogawa H, Narita H, Otto K, Yoschida T, Yoschikawa Y. Ratio of leptin to adiponectin as an obesity index of cynomolgus monkeys. *Exp Anim.* 2003; 52(2):137-143.
- (3) Martins IS & Marinho SP. O potencial diagnóstico dos indicadores da obesidade centralizada. *Rev Saúde Pública* 2003; 37(6):760-767.
- (4) Pereira JE, Cotrim HP, Freitas LAR, Paraná R, Portugal M, Lyra LG. Esteato-hepatite relacionada ao vírus da hepatite C: perfil clínico-histológico. *J Bras Patol Med Lab.* 2006; 42(2):115-22.
- (5) Lerario DDG, Gimneo SG, Franco LJ. Excesso de peso e gordura abdominal para a síndrome metabólica em nipo-brasileiros. *Rev Saúde Pública* 2002; 36(1):4-11.
- (6) World Health Organization (Who). Report of a WHO consultation on obesity. In: *Obesity – preventing and managing the global epidemic.* Geneva: WHO; 1998.
- (7) Matos MIR, Aranha LS, Faria NA, Ferreira ARG, Bacaltchuck J, Zanella MT. Binge eating disorder, anxiety, depression and body image in grade III obesity patients. *Rev Bras Psiquiatr.* 2002; 24(4):165-69.
- (8) Koener J, Aronne LJ. The emerging science of body weight regulation and its impact on obesity treatment. *The Journal of Clinical Investigation* 2003; 111(5):565-70.
- (9) Fandinhõ J, Benchimol AK, Coutinho WF, Appolinário JC. Cirurgia Bariátrica: Aspectos clínico-cirúrgicos e psiquiátricos. *Rev Psiquiatr.* 2004; 26(1):47-54.
- (10) Lacerda SNL, Lira OB. Fígado, Obesidade e By –Pass. In: LACERDA, SNL. *Fígado e Doenças Metabólicas.* RJ: Editora Revinter, 1989. p. 33-62.
- (11) Escrivão MAMS, Oliveira FLC, Taddei JAAC, Lopez FA. Obesidade exógena na infância e na adolescência. *J Pediatr.* 2000; 769(3):305-10.
- (12) Dobrow IJ, Kamenetz C, Devlin MJ. Aspectos psiquiátricos da obesidade. *Rev Bras Psiquiatr.* 2002; 24 (3):63-7.

- (13) Wang Y, Monteiro CA, Popkin BM. Trend of obesity and underweight in older children and adolescents in the USA, Brazil, China and Rússia. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75:971-7.
- (14) Monteiro CA, Mondini L, Souza ALM, Popkin BM. The nutrition transition in Brazil. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49:105-13.
- (15) Faria OP, Pereira Va, Gangoni CMC, Lins Rd, Leite S, Rassi V, et al. Obesos mórbidos tratados com gastroplastia redutora com Bypass gástrico em Y de Roux: Análise de 160 pacientes. *Brasília Méd.* 2002; 39(1-4):26-34.
- (16) Abelson P, Kennedy D. The obesity epidemic. *Science.* 2004; 5676 (304): 1413.
- (17) Stevens R. Increases in clinically severe obesity in the United States, 1986-2000. *Arch Intern Med.* 2003; 163(18):2146-8.
- (18) Lakka TA, Lakka HM, Salonen R, Kaplan Gs, Salonen JS. Abdominal obesity is associated with accelerated progression of carotid atherosclerosis in men. *Atherosclerosis* 2001; 154:504.
- (19) Deitel M, Shikora AS. The development of the surgical treatment of morbid obesity. *Journal of the American College of Nutrition* 2002; 52:365-71.
- (20) Repetto G, Mottin CC, Casagrande D, Marchese C. Tratamento clínico e cirúrgico da obesidade mórbida. *Nutrição Hospitalar* 2001:42-4.
- (21) Rosado EL, Monteiro JBR. Obesidade e a substituição de macronutrientes da dieta. *Rev Nutr Camp.* 2001; 14(2):145-52.
- (22) Fisberg M. Atualização em obesidade na infância e adolescência. Ed. Atheneu, 2004; 236p.
- (23) Silva AP, Nascimento L, Osso F, Mizurini D, Dilza C, Martinez AMB, Carmo MG. Ácidos graxos plasmáticos, metabolismo lipídico e lipoproteínas de ratos alimentados com óleo de palma e óleo de soja parcialmente hidrogenado. *Rev Nutr Campinas* 2005; 18(2): 229-37.
- (24) Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. DATASUS. Mortalidade – CID 10: óbitos por residência por causa – CID-BR. Período: 1996. [Online]. [15 jul 1999]. <http://www.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/dxbr.def>

- (25) De-Bac C, Clementi C, Duca F, Livoli D, Poliandri G, Bozza A, et al. Liver cirrhosis: epidemiological aspects in Italy. *Rev Virol.* 1997; 148: 139.
- (26) Gentilini P, Laffi G, La-Villa G, Romanelli Rg, Buzzelli G, Casini-Raggi V, et al. Long course and prognostic factors of virus-induced cirrhosis of the liver. *Am J Gastroenterol.* 1997; 92: 66.
- (27) Tominagata K, Kurata JH, Chen IK, Fujimoto E, Miyagawa S, Kusano W. Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity: an epidemiological ultrasonographic survey. *Dig Dis Sci.* 1995; 40: 2002-09.
- (28) Sherlock S. Doenças do fígado e do sistema biliar. 8 ed. Ed. Guanabara Koogan S.A, RJ, 1991.p. 343-46.
- (29) Xu A, Wang Y, Keshaw H, Yi Xu L, Lam KSL, Cooper GJS. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *The Journal of Clinical Investigation* 2003; 12(1):91-100.
- (30) Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, Clemens M, Diehl AM. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: Implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci.* 1997; 94:2557-62.
- (31) Maio R, Dichi JB, Burini, RC. Conseqüências nutricionais das alterações metabólicas dos macronutrientes na doença hepática crônica. *Arq Gastroenterol.* 2000; 37(1):52-7.
- (32) Csendes P, Paolinelli P, Busel D, Venturelli V, Rodriguez J. *Revista Chilena de Radiología.* 2004; 10(2):50-52.
- (33) Nompleggi DJ, Bonkovsky HL. Nutritional supplementation in chronic liver disease: an analytical review. *Hepatology* 1994;19:518-33)
- (34) Batista Filho M. Alimentação, nutrição e saúde. In: Rouquayrol MZ, Almeida Filho N, organizadores. *Epidemiologia & Saúde.* 5ª ed. Rio de Janeiro: Editora Medsi; 1999. p. 247-255.
- (35) Waldden TA, Sarwer DB, Womble LG, Foster GD, Mcguckin BG, Schimmel A. Psychosocial aspects of obesity and obesity surgery. *Surg Clin North Am.* 2001; 81(5):1001-24.
- (36) Sawaya AL & Roberts S. Baixa estatura nutricional e risco de obesidade futura: principais mecanismos fisiológicos. *Cad. Saúde Pública,* 2003; 19(1):21-8.

- (37) Luiz AMAG, Goraueb R, Junior RDL, Domingos NAM. Depressão, ansiedade e competência social em crianças obesas. *Estudos de Psicologia* 2005; 10(1):35-39.
- (38) Lins S, Thomas T, Storlien L, Huang X: Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57B1-6J Mice. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 2000; 105:639-46.
- (39) Elliott J, Hems Da, Beloff-Chai A. Carbohydrate metabolism of the isolated perfused liver of normal and genetically obese-hyperglycaemic mice. *Biochem J.* 1971; 125:773-80.
- (40) Katan MB. Fatty acids and health – an update. *Scan J Nutr.* 1999; 43:26.
- (42) Morris KL, Zemel ML. Glycemic index, cardiovascular disease and obesity. *Nutrition Review* 1999; 57(9):273-76.
- (43) Duarte ACGO, Fonseca DF, Manzoni MSJ, Soave CF, Sene-Fiorese M, Damaso AR, et al. Dieta Hiperlipídica e capacidade secretora de insulina em ratos. *Revista de Nutrição* 2006; 19(3): ISSN 1415-5273.
- (44) Trichopoulou A, Lagiou P. Worldwide patterns of dietary lipids intake and health implications. *Am J Clin Nutr.* 1997; 66:96IS-4S.
- (45) Mahfouz MM, Kummerow FA. Hydrogenated fat high in rats monoenes with an adequate level of linoleic acid has no effect on prostaglandin synthesis in rats. *J Nutr.* 1999; 129:15-24.
- (46) Troisi R, Willet WE, Weiss S. Trans-fatty acid intake in relation to lipid concentrations in adult men. *Am J Clin Nutr.* 1992; 56(6):1019-24.
- (47) Pereira LO, Francischi RP, Junior AHL. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003; 47(2): 111-27.
- (48) Acheson K J, Hatt JP, Jequier E. Glycogen synthesis versus lipogenesis after a 500 gram carbohydrate meal man. *Metabolism* 1982; 31:1234-40.
- (49) Demonte A. Carboidratos. In: Oliveira JED, Marchini JS. *Ciências Nutricionais*. SP: Editora Sarvier; 1998. p. 72-87.

- (50) Zamin Jr I, Mattos AA, Perin C, Ramos GZ. A importância do índice AST e ALT no diagnóstico de esteatohepatite não-alcóolica. *Arq Gastroenterol.* 2002; 39(1):22-6.
- (51) Moreira AVB, Mancini-Filho J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecido de ratos. *Rev Nutr.* 2004; 17(4):411-24.
- (52) Kretschmer BD, Schelling P, Bier N, Liebscher C, Treutel S, Kruger N, et al. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Science* 2005; 76(14):1553-73.
- (53) Sabarense CM, Mancini Filho J. Efeito da gordura vegetal parcialmente hidrogenada sobre a incorporação de ácidos graxos trans em tecidos de ratos. *Rev Nutr.* 2003; 16(4):399-407.
- (54) Santos HB, Madruga MS, Bion FM, Antunes NLM, Mendes K, Águida R. Estudos bioquímicos e hematológicos em ratos sobre biodisponibilidade de minerais numa dieta enriquecida com multimistura. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2004; 24(4):613-18.
- (55) Rabb RM, Bullen J, Kellehen J, Mantzoros C, Stephanopoulos G. Regulation of mouse hepatic genes in response to diet induced obesity, insulin resistance and fasting induced weight reduction. *Nutrition & Metabolism* 2005; 2:15.
- (56) Ferreira FC. Adaptações somáticas a programa de exercício moderado em natação, em ratos machos jovens alimentados com dieta hipercalórica [monografia]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2002.
- (57) Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition* 2004; 20(2):218-24.
- (58) Ikemoto S, Thompson Ks, Takahashi M, Itakura H, Lane MD, Ezaki O. High fat diet-induced hyperglycemia: Prevention by low level expression of a glucose transporter minigene in transgenic mice. *Proc Natl Aca Sci.* 1995; 92:3096-99.
- (59) Duarte FO. Adaptações metabólicas a dois tipos de treinamento moderado de natação, contínuo e intermitente, em ratos machos adultos alimentados com dieta

normocalórica e hipercalórica [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2001.

(60) Ahima RS & Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11:327-32.

(61) Parks EJ. Dietary carbohydrate's effects on lipogenesis and the relationship of lipogenesis to blood insulin and glucose concentrations. *BR J Nutr* 2002; 87(2):247-53.

(62) Uyeda K, Yamashita H, Kawaguchi T. Carbohydrate responsive element-binding protein: a key regulator of glucose metabolism and fat storage. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001; 11(4):118-21.

(63) Kersten S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO reports* 2001; 21(41):282-6.

(64) Perez-Martin A, Raynaud E, Mercier J. Insulin resistance and associated metabolic abnormalities in muscle: effects of exercise. *Obs Rev.* 2001;2(1):47-59.

(65) Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MIC, Lima FB. Tecido adiposo como órgão endócrino: da teoria à prática. *Jornal de Pediatria.* 2007; 83(5):192-203.

(66) Machado, DF, Ferreira CLLF, Costa NMB, Oliveira TT. Efeito de probióticos na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido fólico. *Cienc Tecnol Aliment* 2003 ;23(2):270-5.

(67) Day CP, James O. Steatohepatitis: a tale of two hits? *Gastroenterology.* 1998;114:842-5.

(68) Kersten S. Peroxisom proliferator activated receptor and obesity. *European Journal of Pharmacology* 2002; 440:223-34.

(69) Kalman DR & Saltzman JR. Nutrition status predicts survival in cirrhosis. *Nutr Rev* 1996;54:217.

(70) Carneiro G, Faria AN, Filho FR, Guimarães A, Lerário, D, Ferreira SRG, et al. Influência da distribuição da gordura corporal sobre a prevalência de hipertensão arterial e outros fatores de risco cardiovascular em indivíduos obesos. *Rev Assoc Med Bras.* 2003; 49(3):306-311.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Abaixo ficha utilizada durante o estudo para acompanhamento e coleta dos dados: Peso do Animal, Peso da Ração Fornecida e da Sobra. P0 a P4 foram utilizados como padrão para descrição de cada animal dos diferentes grupos, pois foram alocados em gaiolas individuais, sendo possível a coleta dos dados por grupo e por animal de peso corporal e da sobra da ração, semanal e diariamente, respectivamente. (Abaixo)

DATA	GRUPO	GRUPO	GRUPO	GRUPO
	CONTROLE	HIPERCALÓRICO	HIPERGLICÍDICO	HIPERLIPÍDICO
	PESO ANIMAL	PESO ANIMAL	PESO ANIMAL	PESO ANIMAL
	P0 =	P0 =	P0 =	P0 =
	P1 =	P1 =	P1 =	P1 =
	P2 =	P2 =	P2 =	P2 =
	P3 =	P3 =	P3 =	P3 =
	P4 =	P4 =	P4 =	P4 =
	DIETA OFERECIDA	DIETA OFERECIDA	DIETA OFERECIDA	DIETA OFERECIDA
	P0 =	P0 =	P0 =	P0 =
	P1 =	P1 =	P1 =	P1 =
	P2 =	P2 =	P2 =	P2 =
	P3 =	P3 =	P3 =	P3 =
	P4 =	P4 =	P4 =	P4 =
	SOBRA	SOBRA	SOBRA	SOBRA
	P0 =	P0 =	P0 =	P0 =
	P1 =	P1 =	P1 =	P1 =
	P2 =	P2 =	P2 =	P2 =
	P3 =	P3 =	P3 =	P3 =
	P4 =	P4 =	P4 =	P4 =

APÊNDICE B

TABELA 8. Controle da massa corporal semanal por grupo durante o período experimental.

Variável	Grupo	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Peso pré	Controle	5	60,00	60	56	64	3,16
	Hiperglic	5	60,00	56	48	74	10,10
	Hiperlip	5	61,60	62	60	64	1,67
	Misto	5	62,80	66	54	68	5,76
PESO 1	Controle	5	108,00	108	106	110	1,41
	Hiperglic	5	90,00	90	72	104	12,25
	Hiperlip	5	72,00	72	68	76	3,16
	Misto	5	119,60	124	104	128	10,43
PESO 2	Controle	5	150,80	150	146	156	3,63
	Hiperglic	5	102,40	100	84	120	14,03
	Hiperlip	5	77,60	76	70	84	5,55
	Misto	5	165,60	166	154	178	9,84
PESO 3	Controle	5	179,60	180	174	184	3,85
	Hiperglic	5	107,20	108	90	124	13,01
	Hiperlip	5	85,60	88	74	96	8,17
	Misto	5	202,00	204	186	212	10,00
PESO 4	Controle	5	189,00	202	121	214	38,41
	Hiperglic	5	111,20	114	94	130	13,39
	Hiperlip	5	95,20	98	80	110	11,10
	Misto	5	241,60	240	230	252	8,17
Variável	Grupo	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
PESO 5	Controle	5	233,60	230	222	246	10,04
	Hiperglic	5	118,40	118	102	138	14,31
	Hiperlip	5	102,00	106	82	116	12,88
	Misto	5	276,40	276	262	292	12,03
PESO 6	Controle	5	249,60	248	242	260	8,17
	Hiperglic	5	127,20	124	110	152	18,58

	Hiperlip	5	116,40	120	94	136	16,02
	Misto	5	299,20	302	284	312	10,64
PESO 7	Controle	5	271,60	270	260	284	10,24
	Hiperglic	5	134,00	130	114	158	20,25
	Hiperlip	5	122,00	130	96	142	18,60
	Misto	5	326,40	324	312	338	10,71
PESO 8	Controle	5	297,20	294	286	308	8,79
	Hiperglic	5	146,80	138	124	176	25,52
	Hiperlip	5	136,00	146	110	154	18,33
	Misto	5	351,60	350	336	368	12,68

APÊNDICE C

TABELA 11. Valores das sobras (g) semanais de ração por grupo.

Variável	Grupo	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
Média sobras dia 1 a dia 7	Controle	7,54	7,43	6,57	8,29	0,66	
	Misto	6,11	6,29	4,00	7,71	1,67	
	Glic	5 6,91	6,57	3,14	9,43	2,55	
	Lipid	5 6,80	8,86	1,71	10,29	3,94	0,735
Média sobras dia 8 a dia 14	Controle	5 1,77	2,00	0,86	2,29	0,55	
	Misto	5 0,63	0,57	0,00	1,71	0,71	
	Glic	5 7,54	8,57	3,71	10,00	2,54	
	Lipid	5 2,06	0,57	0,00	8,57	3,67	0,008
Média sobras dia 15 a dia 21	Controle	5 0	0	0	0	0	
	Misto	5 0	0	0	0	0	
	Glic	5 7,66	8,57	0,86	11,14	4,02	
	Lipid	5 1,34	0,29	0,00	5,71	2,45	0,009
Média sobras dia 22 a dia 28	Controle	5 0	0	0	0	0	
	Misto	5 0	0	0	0	0	
	Glic	5 12,63	12,86	10,00	14,57	1,66	
	Lipid	5 1,66	0,29	0,00	7,43	3,24	0,001

Média sobras dia 29 a dia 35	Controle	5	0	0	0	0	0	
	Misto	5	0	0	0	0	0	
	Glic	5	12,91	13,14	9,71	14,86	2,16	
	Lipid	5	1,49	0,00	0,00	6,86	3,01	0,001
Média sobras dia 36 a dia 42	Controle	5	0	0	0	0	0	
	Misto	5	0	0	0	0	0	
	Glic	5	7,49	7,43	0,86	13,71	4,62	
	Lipid	5	1,77	0,29	0,00	8,29	3,64	0,002
Média sobras dia 43 a dia 49	Controle	5	0	0	0	0	0	
	Misto	5	0	0	0	0	0	
	Glic	5	7,54	8,00	1,43	12,29	3,91	
	Lipid	5	1,43	0,29	0,00	6,00	2,56	0,001
Média sobras dia 50 a dia 58	Controle	5	0	0	0	0	0	
	Misto	5	0	0	0	0	0	
	Glic	5	7,30	8,00	0,75	13,25	4,78	
	Lipid	5	1,80	0,00	0,00	8,00	3,49	0,003

(*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$

APÊNCIDE D

TABELA 12. Comparação do valor de p entre os grupos em relação as médias das sobras.

Variável	Controle x misto	Controle x glic	Controle x lipid	Misto x Glic	Misto x lipid	Glic x lipid
Média sobras dia 1 a dia 7	0,032	0,0079	0,222	0,0079	0,841	0,032
Média sobras dia 8 a dia 14	-	0,0079	0,032	0,0079	0,032	0,016
Média sobras dia 15 a dia 21	-	0,0079	0,151	0,0079	0,151	0,0079
Média sobras dia 22 a dia 28	-	0,0079	0,310	0,0079	0,310	0,0079
Média sobras dia 29 a dia 35	-	0,0079	0,151	0,0079	0,151	0,056
Média sobras dia 36 a dia 42	-	0,0079	0,032	0,0079	0,032	0,016
Média sobras dia 43 a dia 57	-	0,0079	0,310	0,0079	0,310	0,056

(*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,008$ (corrigido por Bonferroni)

ANEXOS

ANEXO A

TABELA 1. Classificação do estado nutricional de acordo com o Índice de Massa Corporal para adultos (IMC)

CLASSIFICAÇÃO	IMC (kg/m²)
Baixo Peso	< 18,5
Peso Normal	18,5 – 24,9
Sobrepeso	25 – 29,9
Obesidade I	30 – 34,9
Obesidade II	35 – 39,9
Obesidade Mórbida (III)	> 50

WHO, 1997.

TABELA 2. Classificação para IMC acima de 40 kg/m².

CLASSIFICAÇÃO	IMC (kg/m²)
Obesidade Pequena	27-30
Obesidade Moderada	30-35
Obesidade Grave	35-40
Obesidade Mórbida	40-50
Superobesidade	50-60
Super/superobesidade	> 60

(CONSELHO LATINO-AMERICA DE OBESIDADE 1998, WHO 1998.)

ANEXO B

Etapas do Preparo de Lâminas Histológicas

1. Fixação em formalina 10% (mais usada) ou outro líquido fixador (Zenker, Bouin, Alfac, entre outros)
2. Desidratação, diafanização e impregnação em parafina em autotécnico ou histotécnico marca Leica modelo TP1020 – banhos sucessivos em álcool 70%, 80%, 90%, 3 banhos em álcool 100% e 3 banhos em parafina líquida a 65°, todos por 1 hora
3. Inclusão – confecção dos blocos de parafina, utilizando-se o Inclusor marca Leica, modelo EG1160
4. Microtomia – os blocos de parafina são cortados em micrótomo a 5 micras obtendo-se, assim, os cortes histológicos. Micrótomo marca Leica modelo RM2145
5. Banho histológico – os cortes histológicos são colocados em banho-maria contendo água aquecida a 60°C e posteriormente são “pescados” ou colocados em lâmina de vidro com albumina (clara de ovo+glicerina) que servirá para aderir o corte histológico à lâmina
6. Secagem – feita em estufa marca Fanem a 60°C por aproximadamente 1 hora
7. Desparafinização, desidratação e rehidratação – a desparafinização é feita com xilol aquecido (3x 5 min.), a desidratação é feita com álcool etílico absoluto (3x 2 min.) e os cortes são reidratados com água por 10 min.
8. Coloração – Hematoxilina e Eosina (coloração básica para núcleo e citoplasma das células) ou colorações especiais (para estruturas ou microorganismos específicos)
9. Montagem – utiliza-se para a montagem das lâminas Entellan (resina própria para microscopia), marca Merck e lamínulas de vidro tamanho 24x90mm