

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

PERFIL GLICÊMICO DE RATOS TRATADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA¹ GLYCEMIC PROFILE OF RATS TREATED WITH HYPERLIPIDIC DIET

**João Schmidt Corso², Analú Bender Do Santos³, Mirna Stela Ludwig⁴,
Thiago Gomes Heck⁵**

¹ Projeto de pesquisa vinculado a bolsa de iniciação científica, do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIJUI, Departamento de Ciências da Vida.

² Acadêmico do curso de Educação Física - Bacharelado da UNIJUI, Bolsista de Iniciação Científica PIBIC-CNPq, Grupo de Pesquisa em Fisiologia UNIJUI.

³ Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Mestranda Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) UNIJUI/UNICRUZ.

⁴ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF), Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI).

⁵ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF), Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI). Orientador.

Introdução

É inegável que atualmente, a população em geral, tem tendências a um estilo de vida sedentário e inativo fisicamente. Este quadro, associado a uma má alimentação, com frequente ingestão de alimentos ricos em carboidratos e lipídios, leva a consequências alarmantes para o indivíduo, como o desenvolvimento da obesidade, uma doença crônica, relacionada ao aumento excessivo das reservas de gordura do organismo. Outra consequência é o desenvolvimento do Diabetes mellitus tipo 2 (DM2), resultado de disfunções na ação insulínica, marcada por sinais de resistência à insulina em tecidos periféricos, como o músculo esquelético e o tecido adiposo. (GUYTON; HALL, 2002). Estas doenças são atualmente consideradas como a principal epidemia global sem causas infecciosas (WHO, 2014).

O indivíduo obeso é mais propício a desenvolver o DM2, tendo em vista que, com a obesidade, ocorre o aumento excessivo do depósito de gordura no tecido adiposo central, resultando em um estado pró-inflamatório. Pois com a expansão do tecido adiposo, ocorre a ativação de células imunes e esta associação resulta na liberação de citocinas que sinalizam um quadro inflamatório para outros tecidos como músculo esquelético e fígado, resultando no comprometimento da sinalização insulínica e a regulação dos níveis de glicose (KEANE; NEWSHOLME, 2014).

Neste contexto, em um estado onde a condição glicêmica, lipídica e de inflamação aumenta persistentemente, ocorre por conseguinte, o aumento da formação das chamadas, espécies reativas de oxigênio (ERO) que promovem dano oxidativo, que age diretamente debilitando a sinalização da insulina (hormônio que promove a captação de glicose para as células) e na degradação das células β -pancreáticas (células que produzem a insulina) (KEANE; NEWSHOLME, 2014). O DM2 pode ser identificado ainda em estágios iniciais, no qual, já apresenta características que precedem a instalação da doença, como a glicemia de jejum alterada e/ou a tolerância à glicose diminuída. Este quadro é chamado de pré-diabetes (HALLAL et al, 2012).

É bastante utilizado para estudo sobre a obesidade e diabetes o modelo de animais de laboratório

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

tratados com dietas hiperlipídicas, com foco proposição de novas terapias e de investigação de mecanismos fisiopatológicos do desenvolvimento do DM2. O modelo animal mais usado neste tipo de pesquisa são os ratos e camundongos, e sua grande utilização está relacionada com a ampla semelhança fisiológica dos humanos com o animal. Estes modelos animais de DM2 possibilitam o desenvolvimento de medicamentos e alternativas para a população, considerados modelos adequados para a investigação científica. (ANDRADE et al., 2002). A partir destas considerações, o presente estudo tem como objetivo, descrever o perfil glicêmico de ratos Wistar tratados durante 12 semanas com dieta hiperlipídica, que é considerado um modelo adequado para estudo do DM2.

Materiais e Métodos

Animais: Foram utilizados 50 ratos Wistar, machos, com 12 semanas de idade, provenientes do Biotério da Unijuí. Os animais foram mantidos em gaiolas semi-metabólicas, sob ciclo claro/escuro 12h/12h, temperatura relativa do ar controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). Os animais tiveram o livre acesso a água potável ad libitum e receberam ração padronizada para animais de laboratório (Nuvilab CR-1), ou ração hiperlipídica. Projeto aprovado pelo CEUA, parecer consubstanciado nº 001/2015

Grupos: Os animais foram separados em dois grupos: O grupo Obeso, contendo 26 ratos, submetidos a 12 semanas consumindo ração hiperlipídica (BOCK et al., 2015). E o grupo Controle (Magro), com 24 ratos, que ingeriram nestas mesmas 12 semanas, ração comercial padrão (Nuvilab CR-1).

Ração padrão: Nuvilab CR-1, (total de energia metabolizável: 16,6 MJ / kg, sendo 11,4% gorduras, 62,8% carboidratos e 25,8% proteínas).

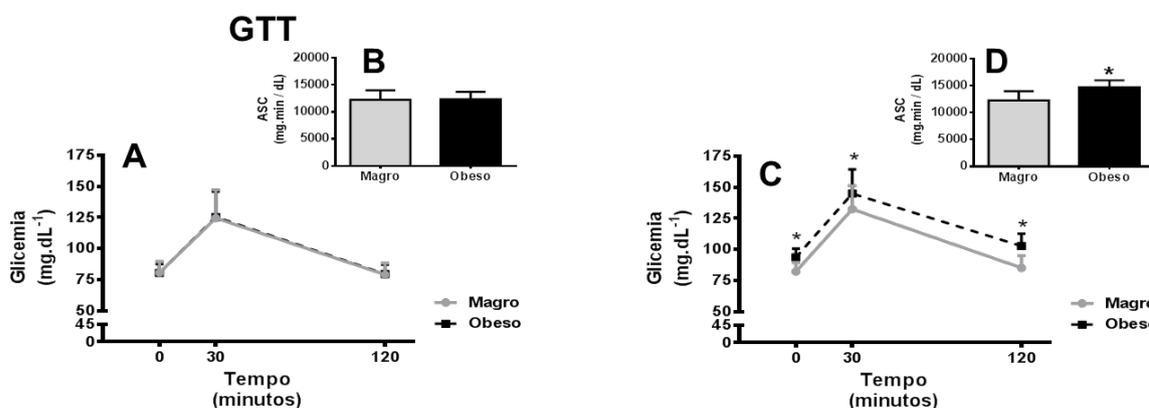
Ração hiperlipídica: A ração ofertada ao grupo Obeso é a base de banha (energia metabolizável total: 22,8 MJ / kg, sendo 58,3 % de gorduras, 24,5% e 17,2% de proteínas), todos os ingredientes da ração hiperlipídica (exceto carboidrato e banha de porco) foram ajustados para estarem presentes na mesma proporção que no grupo Magro (BOCK et al., 2015). Para atender este padrão foram utilizados 13,7% de albumina de ovo, 7,4% de suplemento de aminoácidos (AminomixTM), 1,1% de farinha de osso e ostra. Esta dieta foi semanalmente preparada no Laboratório de Ensaio Biológicos da Unijuí e conservada sob refrigeração ($4-8^\circ\text{C}$) durante o período.

Teste de Tolerância a glicose (GTT): Para análise da tolerância a glicose nos animais, foi realizado o GTT, antes do início do consumo de dieta hiperlipídica, e ao final de 12 semanas. Este teste consiste em verificar a glicemia após 12 horas de jejum (tempo zero), e após a verificação, administra-se a solução de glicose (concentração: 80% [m/v]) por injeção intraperitoneal, na dose de 1g/kg. Posteriormente realiza-se o monitoramento glicêmico 30 e 120 minutos após a administração de glicose. Foi usado glicosímetro, e o sangue (5 μl) foi coletado com uma punção na parte distal da cauda do animal. A leitura da resposta glicêmica durante o teste foi avaliada pelo cálculo de área sob a curva (AUC).

Resultados e Discussão

Figura 1. Efeito da ração hiperlipídica sobre o Teste de Tolerância a Glicose (GTT).

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA



Curvas Glicêmicas referentes ao Teste de Tolerância à Glicose (GTT) (A) Tempo zero e (C) Tempo 12 semanas. Área Sob a Curva (ASC) referente ao GTT (B) Tempo zero e (D) Os dados estão expressos como média \pm DP. Analisados por ANOVA de 2 vias de medidas repetidas seguido do pós teste de Sidak (A e C) e Teste t não pareado (B e D). * $P < 0,0001$ vs magro. $N = 24-26$.

No primeiro GTT (Figura 1-A), realizado na semana sem qualquer intervenção de dieta hiperlipídica, os animais apresentaram concentração média de glicose em jejum idênticos (de 75 mg/dL), assim como o mesmo pico glicêmico de 125 mg/dL, e área sob a curva (ASC) (figura 1B), resultados considerados normais para o modelo animal.

Já no segundo teste (Figura 1-C), realizado após a 12^a semana, o grupo Magro manteve a mesma média glicêmica do primeiro GTT, porém os animais que ingeriram dieta hiperlipídica durante este período apresentaram concentração média glicêmica sempre em uma faixa superior ao intervalo de normalidade dos níveis de glicose circulante, como o grupo Magro. A glicemia de jejum do grupo Obeso teve um aumento de 11,06%, quando os comparamos no tempo zero e no tempo 12 semanas. Além disso, a intolerância a sobrecarga de glicose, é demonstrado pelo aumento na ASC. Estes resultados confirmam a validade do modelo experimental de dieta hiperlipídica utilizada para mimetizar o modelo de obesidade e DM2, que permite investigação científica sobre as alterações no metabolismo dos animais. Como observado no último GTT (12^o semana), a piora na resposta a sobrecarga de glicose em relação ao grupo Magro, evidencia um quadro de diminuição na tolerância a glicose e, possível estado de resistência periférica à insulina, considerados animais ao menos como pré-diabéticos. Essa dieta ofertada, que reconhecidamente gera DM2 em camundongos (GOETTEMMS-FIORIN et al, 2016; BOCK et al 2015) também pode ser usada em ratos com a mesma finalidade.

Conclusão

O modelo de dieta hiperlipídica demonstra-se apropriado para a indução da obesidade e DM2 e adequado para futuros estudos que investiguem novas estratégias terapêuticas farmacológicas e não farmacológicas.

Palavras-chaves: Glicemia, Obesidade, Pré-diabetes.

Keywords: Blood Glucose, Obesity, Prediabetes.

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Referências

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de Laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002.

BOCK, P. M. et al. Oral supplementations with l-glutamine or l-alanyl-l-glutamine do not change metabolic alterations induced by long-term high-fat diet in the B6.129F2/J mouse model of insulin resistance. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v. 410, n. 182, p. , 2015.

GOETTEMES-FIORIN P.B. et al. Fine particulate matter potentiates type 2 diabetes development in high-fat diet treated mice: stress response and extracellular to intracellular HSP70 ratio analysis. *Journal of Physiology and Biochemistry, Navarra*, v. 72 (4), p.643- 656, dez. 2016.

GUYTON, A. C. ; HALL, J. E. Insulina, glucagon e diabetes mellitus. *Tratado de fisiologia médica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. p. 827-840.

HALLAL, P. C. et al. Global physical activity levels: surveillance progress, pitfalls, and prospects. *Lancet*, v. 380, n. 9838, p. 247-257, 2012.

HECK, Thiago Gomes. HSP70 como Marcador de Intensidade de Exercício: Razão entre o Conteúdo Extracelular e Intracelular de HSP70 como um Sinal de Alerta Imunológico.2011. 143f. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2011.

KEANE, K.; NEWSHOLME, P. Metabolic Regulation of Insulin Secretion. In Gerald Litwack, editor: *Vitamins and Hormones*, v. 95, Burlington: Academic Press, 2014, pp. 1-33.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Aspectos clínicos e laboratoriais do diagnóstico de Diabetes e Pré-Diabetes, p. 5-8, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Health Estimates: Deaths by Cause, Age, Sex and Country, 2000-2012. Geneva, WHO, 2014. In: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>