

MODELO DE INDUÇÃO A DISLIPIDEMIA COM DIETA HIPERCALÓRICA EM CAMUNDONGOS C57BL/6

FERNANDA FERREIRA NÚÑEZ¹; ELISA DOS SANTOS PEREIRA²; VANIZE PRIEBE SELL³; ÂNGELA MARIA FIORENTINI⁴; SIMONE PIENIZ⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – fernandafnunez@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – lisaspereira@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – vanizepriebesell@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – angefiore@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Modelos animais são amplamente utilizados em pesquisas científicas na busca pelo entendimento da anatomia humana e animal, assim como da fisiologia, patologia e farmacologia (ANDERSEN e WINTER, 2017). Devido à proximidade filogenética, o baixo custo e a relativa facilidade de manutenção, roedores vêm sendo amplamente utilizados como modelo animal ao estudo dos efeitos da hipercolesterolemia e consequências no sistema cardiovascular (GETZ e REARDON, 2016).

Para indução da obesidade, os camundongos são os animais mais empregados, sendo as linhagens isogênicas ou *inbred* (C57BL/6, C57BL/6J, AKR/J, A/J) as mais frequentes (HARIRI e THIBAUT, 2010). Essas linhagens são obtidas a partir do cruzamento de camundongos consanguíneos, permitindo a criação de populações estáveis e geneticamente homogêneas (WHITE et al., 2013).

Alguns estudos têm demonstrado a eficácia da ingestão de dietas hipercalóricas ou dietas hiperlipídicas na gênese da obesidade e de suas comorbidades.

Dietas ricas em frutose promovem aumento na lipogênese de novo e também têm sido empregadas na indução de dislipidemia e resistência à insulina em modelos animais (SHARABI et al, 2007; HWANG et al., 1987; BEZERRA et al., 2007).

Assim, o objetivo deste estudo foi verificar o potencial da dieta hipercalórica na indução de dislipidemia em camundongos C57BL/6.

2. METODOLOGIA

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, Brasil (CEEA 18783-2020). Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos e fêmeas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, e mantidos em gaiolas, em ambiente com controle de temperatura ($19\pm 2^{\circ}\text{C}$), luz (12:12 horas ciclo escuro/claro) e água *ad libitum*. Setenta e dois ($n=72$) animais, com dois meses de idade, foram divididos em dois grupos: grupo saudável e grupo induzido à dislipidemia.

Para o desenvolvimento da dislipidemia, foi administrada dieta hipercalórica por 10 meses e para o grupo saudável, foi administrada ração padrão. O valor nutricional da ração elaborada com a finalidade de induzir a dislipidemia corresponde a 390,2 kcal com cerca de 59,3 g de carboidratos, 8,4 g de proteínas e 13,2 g de gordura em 100g do produto. Enquanto a ração padrão possui em 100g: 318,5 kcal com 46,5g de carboidratos, 23g de proteína e 4,5g de gordura.

Após período de indução, os animais foram eutanasiados e o sangue total foi coletado por punção cardíaca e transferido para tubos Vacutainer® contendo EDTA. Após, estes foram centrifugados a 2500 rpm por 15 minutos e o plasma foi separado e utilizado na avaliação dos parâmetros bioquímicos utilizando kits comerciais da marca Labtest, no analisador automático Cobas MIRA®. Os parâmetros lipídicos

mensurados no estudo foram: colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicérides.

Foi realizado controle de peso dos camundongos durante o período de experimento, assim como o consumo médio de ração e coeficiente de eficiência alimentar (CEA).

A análise estatística foi realizada por meio de two-way ANOVA seguida do teste de Tukey. Para comparação de apenas dois grupos, foi usado o teste t-Student. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao consumo de ração, peso inicial e final, ganho de peso e CEA dos grupos saudável e induzidos à dislipidemia estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Consumo de ração, peso inicial e final, ganho de peso e CEA dos grupos saudável e induzidos à dislipidemia.

| Parâmetros | Grupos de estudo | | |
|----------------------------|------------------|---------------------------------|--------|
| | Saudáveis (n=36) | Induzidos à dislipidemia (n=36) | P |
| Fêmeas | | | |
| Peso inicial (g) | 20,49±0,51 | 20,17±0,30 | 0,614 |
| Peso final (g) | 25,17±0,48 | 26,33±1,45 | 0,419 |
| Ganho de peso mensal (g) | 0,58±0,31 | 0,77±0,41 | 0,613 |
| Ganho de peso total (g) | 4,62±0,53 | 6,16±1,26 | 0,340 |
| Consumo médio de ração (g) | 80,81±1,42 | 91,25±5,21 | 0,056 |
| CEA | 0,006±0,00 | 0,007±0,00 | 0,463 |
| Machos | | | |
| Peso inicial (g) | 26,92±0,49 | 23,38±0,69 | <0,050 |
| Peso final (g) | 32,67±0,61 | 33,83±1,35 | 0,498 |
| Ganho de peso mensal (g) | 0,48±0,41 | 2,01±0,23 | <0,050 |
| Ganho de peso total (g) | 5,74±0,57 | 10,46±1,69 | 0,055 |
| Consumo médio de ração (g) | 70,4±1,64 | 73,15±1,24 | 0,225 |
| CEA | 0,009±0,00 | 0,01±0,00 | 0,079 |

Valores representados em média ± erro padrão da média.

CEA: Coeficiente de Eficiência Alimentar/Teste t Pareado.

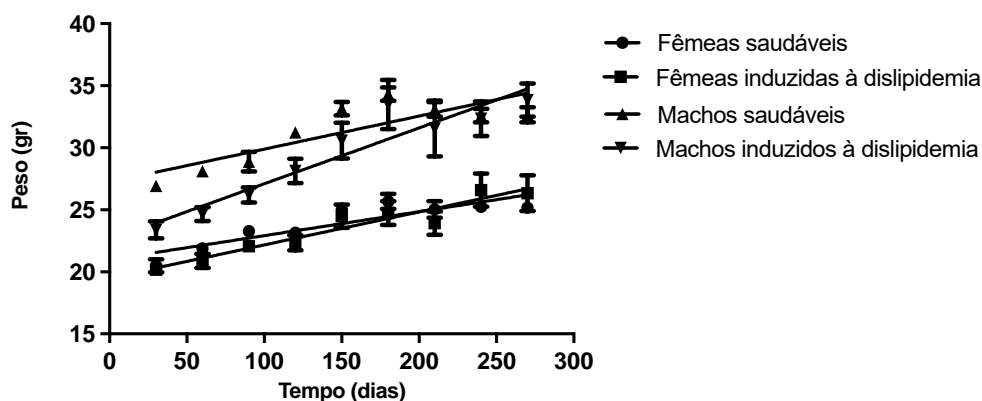
Diante destes resultados, é possível verificar que não houve diferença estatística entre as fêmeas saudáveis e as induzidas à dislipidemia no peso inicial, final e no ganho de peso. Também não foi verificada diferença entre estes grupos no consumo médio de ração e CEA. Os camundongos machos saudáveis apresentaram peso inicial superior aos induzidos à dislipidemia ($p < 0,05$), porém o ganho de peso mensal foi menor ($p < 0,05$), o que resultou em um peso final sem diferença entre os grupos. O consumo médio de ração e CEA não diferiram entre os grupos.

O acompanhamento do ganho de peso ao longo dos 10 meses de todos os grupos avaliados está apresentado na figura 1.

A dieta hipercalórica em comparação com a dieta comercial padrão apresenta em sua composição mais carboidratos, lipídios e menos proteínas, o que faz com que ela além de ser considerada hipercalórica (390,2 kcal frente 318,5 kcal), tenha uma composição inadequada. Essa modificação da dieta padrão comercial para roedores a partir da adição de alimentos mais calóricos, entre eles banha, leite condensado e açúcar, apresentou boa aceitação pelos camundongos, sendo capaz de elevar o peso corporal em níveis superiores aos que recebiam apenas ração padrão, para os machos. A densidade energética da dieta elaborada é maior que a dieta padrão

comercial e apesar de o consumo ter sido semelhante nos dois grupos, o ganho ponderal dos machos induzidos à dislipidemia foi superior aos saudáveis.

Figura 1. Ganho de peso (média \pm desvio padrão) dos grupos saudável e induzidos à dislipidemia.



Regressão linear. ANOVA de duas vias, pós-teste de Bonferroni.

Este aumento de peso alterou alguns parâmetros avaliados neste estudo, especialmente no que se refere ao colesterol e triglicerídeos, conforme pode ser visualizado na tabela 2.

Tabela 2. Análises bioquímicas comparando grupos de camundongos saudáveis e induzidos à dislipidemia.

| Parâmetro lipídico | Fêmeas saudáveis | Fêmeas induzidas | Machos saudáveis | Machos induzidos |
|--------------------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| Triglicérides (mg.dL ⁻¹) | 62,5 \pm 2,12 | 68 \pm 1,41 | 50 \pm 2,82 | 64,5 \pm 3,53* |
| Colesterol (mg.dL ⁻¹) | 110 \pm 7,07 | 185 \pm 4,94* | 91,2 \pm 1,76 | 193 \pm 4,94* |
| HDL (mg.dL ⁻¹) | 25 \pm 4,88 | 35,4 \pm 3,39 | 20,75 \pm 3,18 | 38,7 \pm 0,98* |
| LDL (mg.dL ⁻¹) | 72,4 \pm 0,84 | 136 \pm 1,90* | 65,2 \pm 1,13 | 145,6 \pm 1,97* |
| VLDL (mg.dL ⁻¹) | 12,5 \pm 0,42 | 13,6 \pm 0,28 | 10 \pm 1,69 | 12,9 \pm 0,70* |

*Diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) comparando o mesmo sexo entre os grupos saudáveis e induzidos à dislipidemia.

Com relação as fêmeas, todos os parâmetros do perfil lipídico apresentaram aumento quando se compara as saudáveis com as induzidas. No entanto, somente as alterações nos níveis de colesterol total e de LDL apresentaram diferença estatística significativa.

Na avaliação do perfil lipídico do grupo dos camundongos machos, todos os parâmetros avaliados - triglicérides, colesterol total, HDL, LDL e VLDL - dos animais induzidos apresentaram elevação com diferença estatística significativa quando comparados ao dos animais saudáveis. Essa alteração demonstra que provavelmente o aumento de peso dos animais (10,46 \pm 1,69 g) após a ingestão de 10 meses de dieta hipercalórica foi eficiente para induzir a dislipidemia nos camundongos machos.

Estudos experimentais realizados com ratos alimentados com dieta rica em gordura apresentaram, ao final do estudo, sobrepeso, hiperlipidemia, hiperleptinemia, pressão arterial sistólica elevada, hiperinsulinemia, glicemia elevada e hipertrigliceridemia, bem como elevada albumina urinária, quando comparados com animais alimentados com dieta com baixo teor de gordura (SUMIYOSHI et al., 2006; DEJI et al., 2009).

Segundo BUETTNER; SCHOLMERICH e BOLLHEIMER (2007) e HULBERT et al. (2007) a quantidade de gordura necessária para induzir obesidade em animais está entre 30 e 60% do valor energético (VET), incluindo gorduras do tipo saturada, monoinsaturada e poli-insaturada. No presente estudo, a dieta elaborada a fim de induzir a dislipidemia nos animais apresentou 13,2% de lipídios, o que não a classifica como uma dieta hiperlipídica e provavelmente por esta razão o ganho de peso dos camundongos não foi tão significativo, ainda que alterações no perfil lipídico tenham acontecido.

Assim, estudos relacionados à obesidade e distúrbios metabólicos vêm empregando com eficiência a utilização de dietas ricas em nutrientes semelhantes ao padrão da população humana, como por exemplo, rica em gordura saturada, óleos vegetais e açúcares simples, de forma a mimetizar os danos causados pela mesma e possibilitar o estudo das consequências advindas da sua ingestão (SANTOS, 2016).

4. CONCLUSÕES

Camundongos C57BL/6 adultos alimentados com dieta padrão (grupo saudável) e dieta hipercalórica (induzidos à dislipidemia) não demonstraram diferença significativa de peso e consumo entre animais do mesmo sexo. A dieta hipercalórica desenvolvida e o modelo experimental escolhido foram satisfatórios para a indução a dislipidemia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, M. L.; WINTER, L. M. F. Animal models in biological and biomedical research – experimental and ethical concerns. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 2017.
- BEZERRA, R. M. N, et al. A high-fructose diet induces insulin resistance but not bloodpressure changes in normotensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Reserach**, v. 34, p.1155-60, 2001.
- BUETTNER, R.; SCHOLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat Diets: Modeling the Metabolic Disorders of Human Obesity in Rodents. **Obesity**, v. 15, n. 4, 2007.
- GETZ, G. S.; REARDON, C. A. ApoE knockout and knockin mice: the history of their contribution to the understanding of atherogenesis. **Journal Lipid Research**, v. 57, n. 5, p. 758-66, 2016.
- HWANG, I. S. et al. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**, v.10, p. 512-6, 1987.
- MILLER, M. Niacin as a component of combination therapy for dyslipidemia. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 78, p. 735–42, 2003.
- HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, p. 270–299, 2010.
- HULBERT, A. J.; TURNER, N.; STORLIEN, L. H.; ELSE, P.L. Dietary fats and membrane function : implications for metabolism and disease. **Biological Reviews**, v. 80, p. 155–169, 2005.
- SANTOS, J. P. S.O. Dieta de cafeteria: produção, composição nutricional e influência na glicemia de jejum em modelo animal. Natal, 2016.33 p.
- SHARABI, Y. et al. Effect of PPAR-gamma agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. **American Journal Hypertens**, v. 20, p. 206-10, 2007.
- WHITE, P. A. S. et al. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, 2013.