



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PEDRO ROCHA TENORIO

**CONSUMO DE DIFERENTES RAÇÕES SEMELHANTES À
DIETA HUMANA NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE
E SUAS IMPLICAÇÕES NO PERFIL METABÓLICO, ESTADO
OXIDATIVO SISTÊMICO, TECIDO ADIPOSEO E FÍGADO DE
RATOS ADULTOS**

Londrina
2024

PEDRO ROCHA TENORIO

**CONSUMO DE DIFERENTES RAÇÕES SEMELHANTES À
DIETA HUMANA NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE
E SUAS IMPLICAÇÕES NO PERFIL METABÓLICO, ESTADO
OXIDATIVO SISTÊMICO, TECIDO ADIPOSEO E FÍGADO DE
RATOS ADULTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, para exame de Defesa de Mestrado.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Goulart de Andrade

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

T289c Tenorio, Pedro Rocha.

Consumo de diferentes rações semelhantes à dieta humana no desenvolvimento da obesidade e suas implicações no perfil metabólico, estado oxidativo sistêmico, tecido adiposo e fígado de ratos adultos / Pedro Rocha Tenorio. - Londrina, 2024.
50 f. : il.

Orientador: Fábio Goulart de Andrade.

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Dieta de alta gordura - Tese. 2. Esteatose hepática - Tese. 3. Obesidade Metabolicamente Saudável Resistência à insulina - Tese. 4. Síndrome Metabólica - Tese. I. Andrade, Fábio Goulart de . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Título.

CDU 612

PEDRO ROCHA TENORIO

**CONSUMO DE DIFERENTES RAÇÕES SEMELHANTES À
DIETA HUMANA NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE
E SUAS IMPLICAÇÕES NO PERFIL METABÓLICO, ESTADO
OXIDATIVO SISTÊMICO, TECIDO ADIPOSEO E FÍGADO DE
RATOS ADULTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Orientador. Dr. Fábio Goulart de
Andrade
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Rafael Deminice
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Cássia Thaís Bussamra Vieira
Zaia
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 23 de fevereiro de 2024.

Dedico este trabalho ao meu companheiro, cujo apoio e compreensão foram fundamentais ao longo desta jornada acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Fábio Goulart de Andrade, meu orientador e amigo, expresso minha profunda gratidão por me receber e acolher e reconhecer meus potenciais. Sua orientação dedicada e carinhosa foi fundamental.

À Professora Doutora Glaura Scantamburlo Alves Fernandes, minha mãe científica adotiva, agradeço por sua orientação e apoio ao longo desta jornada acadêmica.

À Professora Doutora Cássia Thais Bussamra Vieira Zaia pela dedicação ímpar, inspiração e o aceite em participar como banca avaliadora. Ao Professor Doutor Rafael Deminice pelo aceite em avaliar e contribuir com o desenvolvimento deste projeto.

A todo o corpo docente do programa de Ciências Fisiológicas, deixo meu reconhecimento pelas valiosas contribuições na formulação inicial deste trabalho. Em especial, agradeço à Professora Doutora Graziela Sciantti Ceravolo, ao Professor Doutor Ernane Torres Uchoa pela sempre atenciosa dedicação e disponibilidade em auxiliar, e às Professoras Doutoras Gisele Lopes Bertolin e Priscila Cassolla pelo auxílio na execução do projeto.

Ao Departamento de Histologia, em especial ao Professor Doutor Osny Ferrari por compartilhar suas histórias e vasto conhecimento e às técnicas Mestra Renata Baldo Rodrigues Carvalho e Doutora Andréia Carla Eugenio Pupim, pelo auxílio no aprendizado, pela companhia e risadas nas longas horas no laboratório.

Aos meus pais, Rosangela Aparecida Rocha Tenorio e Ricardo Costa Tenorio, expresso minha eterna gratidão por moldarem quem sou e por permitirem, com seu apoio e auxílio, a concretização deste trabalho.

Ao meu melhor amigo e irmão, Vitor Rocha Tenorio, agradeço por estar sempre ao meu lado nos momentos difíceis, ouvindo minhas ideias mesmo sem compreendê-las completamente.

A meu companheiro Maria Yasmim Franco Pereira, parceiro de vida, que se manteve forte diante de todas as adversidades enfrentadas e me apoiou nos momentos em que titubeei, compartilhando minhas angústias e dores.

Ao meu grande amigo e irmão por escolha, Gabriel Smolak Sobieski e Silva, agradeço por compartilhar esta jornada comigo no último ano e por me aturar mesmo às 5h da manhã.

A minha querida amiga Isadora Chagas Vercellone, que me acolheu inicialmente e ensinou as bases do que hoje se conclui neste trabalho.

À Kawane Fabrício Moura, por ser uma grande amiga que insiste em tentar aprimorar meu tato social.

À Letícia Cavalcante dos Santos, amiga dedicada e dona de um esforço admirável, expresso minha gratidão.

À Giovanna Fachetti Frigoli, agradeço pelas diversas divisões de informações da vida alheia.

À Débora Hipólito Quadreli, que me ajudou na execução deste trabalho, aturando o meu jeito nem sempre fácil, agradeço sinceramente.

A todos os demais colegas e amigos do Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, em especial Polyana Keiko Shishio, Rhauany Pelisson Guergolette e Larissa Rugila dos Santos Stopa.

A todos os demais colegas passaram ou permanecem no Laboratório de Análise Histopatológica, Sofia de Gasper Alarcon, Marina Imbriani da Silva, Juliany Carolina Duma de Castro, Camila Antunes e Me. Lucas Marcelo Meira da Silva que compartilharam este ano comigo, deixo meu reconhecimento.

A todos os meus animais, filhos de quatro patas, expresso minha gratidão por serem a razão da minha alegria e por me motivarem a continuar quando as coisas se mostram difíceis. A cada um deles, Apolo, Dentinho, Téo, Saturno, Cristal, Poke, Giorno Giovanna, Tobias, Pacato, Nomura, Vaquinha, Dois, Plasmídeo, Toquinho, Salsinha, Manjerição e Tomilho, Xaropinho, JuJu, Jezebel, Ginger e Joline, meu profundo agradecimento.

Aos meus irmãos e irmãs de outra espécie que permanecem, Bruce, Shelby, Mew, Umbreon, Baguera, Belezinha, Kal-el, Cleo e Babinha, e aos que se foram, Puck, Max, Piratinha, expresso minha gratidão por ensinarem-me carinho e compaixão. Em especial, ao Chris, responsável direto pelo caminho que trilho hoje.

“Where the world ends is where you must begin.”

Stephen King, *The Gunslinger*

TENORIO, Pedro Rocha. **Efeitos do consumo de diferentes rações semelhantes à dieta humana no desenvolvimento da obesidade e suas implicações no perfil metabólico, estado oxidativo sistêmico, tecido adiposo e fígado de ratos adultos.** 2024. 48 f. Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

RESUMO

Os principais modelos para investigação da obesidade e doenças associadas ao acúmulo excessivo de adiposidade apresentam limitações, como divergência com nutrição e resposta metabólica humanas, ou a incapacidade de monitoramento da ingesta alimentar dos animais. Este trabalho teve como objetivo comparar o efeito de três rações com diferentes composições nutricionais e graus de processamento, similares a dietas humanas, no desenvolvimento da obesidade e suas alterações metabólicas, em modelo animal. Para tal, foram utilizados 15 ratos Wistar com 90 dias de idade, distribuídos em 3 grupos, mantidos durante 10 semanas: ração comercial integral Nuvilab CR1® (Quimtia, Brasil) controle (C), ração semipurificada normocalórica normolipídica (NL), ração semipurificada hipercalórica hiperlipídica hiperglicêmica (HLG). Para avaliação do metabolismo glicêmico foram realizados os testes de tolerância à glicose e à insulina, assim como frutossamina sérica. O fígado e o tecido adiposo (inguinal e retroperitoneal) foram utilizados para análise histopatológica e de composição tecidual. O soro dos animais foi utilizado para determinação do painel lipídico, de ácido úrico e do estado oxidativo sistêmico. Observou-se a promoção de obesidade nos animais NL sem associação à resistência à insulina, hipercolesterolemia, estresse oxidativo ou alterações hepáticas. Os animais HLG demonstraram manutenção do peso com aumento de adiposidade, esteatose e glicogenose hepática, além de resistência à insulina, hipercolesterolemia e estresse oxidativo relacionado às alterações hepáticas e nutricionais. Assim concluiu-se que a ração NL promoveu um quadro condizente com obesidade metabolicamente saudável, enquanto a ração HLG resultou em um quadro condizente com distúrbio metabólico sem obesidade, ressaltando a relevância nutricional e hepática no desenvolvimento de doenças baseadas em adiposidade.

Palavras-chave: Dieta de alta gordura. Esteatose hepática. Obesidade Metabolicamente Saudável Resistência à insulina. Síndrome Metabólica.

TENORIO, Pedro Rocha. **Effects of consuming different chow, similar to the human diet, on the development of obesity and its implications on the metabolic profile, systemic oxidative status, adipose tissue and liver of adult rats.** 2024. 48 f. Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

ABSTRACT

The main models for investigating obesity and diseases associated with excessive accumulation of adiposity presents limitations, such as divergence from human nutrition and metabolic response, or the inability to monitor the animals' food intake. This study aimed to compare the effect of three diets with different nutritional compositions and processing degrees, similar to human diets, on the development of obesity and its metabolic changes in an animal model. For this purpose, 15 Wistar rats, 90 days old, were used, distributed into 3 groups, maintained for 10 weeks: whole-ingredient commercial diet Nuvilab CR1® (Quimtia, Brazil) control (C), normocaloric normolipidic semi-purified diet (NL), hypercaloric hyperlipidic hyperglycemic semi-purified diet (HLG). To evaluate glycemic metabolism, glucose and insulin tolerance tests were performed, as well as serum fructosamine measurement. The liver and adipose tissue (inguinal and retroperitoneal) were used for histopathological analysis and tissue composition. The animals' serum was used for determining the lipid panel, uric acid, and systemic oxidative status. Obesity promotion was observed in NL animals without association with insulin resistance, hypercholesterolemia, oxidative stress, or hepatic changes. HLG animals showed weight maintenance with increased adiposity, hepatic steatosis, and glycogenosis, as well as insulin resistance, hypercholesterolemia, and oxidative stress related to hepatic and nutritional changes. Thus, it was concluded that the NL diet promoted a condition consistent with metabolically healthy obesity, while the HLG diet resulted in a condition consistent with metabolic disorder without obesity, highlighting the nutritional and hepatic relevance in the development of adiposity-based diseases.

Keywords: High-fat diet. Hepatic steatosis. Metabolically Healthy Obesity. Insulin resistance. Metabolic Syndrome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Média global do índice de massa corpórea entre 1975 e 2016.....	12
Figura 2 – Média do índice de massa corpórea entre 1975 e 2016 nas divisões geográficas da América Latina	13
Figura 3 – Ocorrência de excesso de peso da população adulta por país segundo relatório da Organização Mundial da Saúde de 2016.....	13
Figura 4 – Porcentagem de mortes atribuídas a obesidade, 2019	14
Figura 5 – Interações patofisiológicas no desenvolvimento da obesidade.....	15
Figura 6 – Modelo da patogênese da Doença Crônica Baseada em Adiposidade.....	16
Figura 7 – Expansão de tecido adiposo branco na Doença Crônica Baseada em Obesidade.....	17
Figura 8 – Disfunção celular induzida pela obesidade promove resistência à insulina	20
Figura 9 – Seleção do modelo animal e dietético para o estudo em obesidade...	22

SUMÁRIO

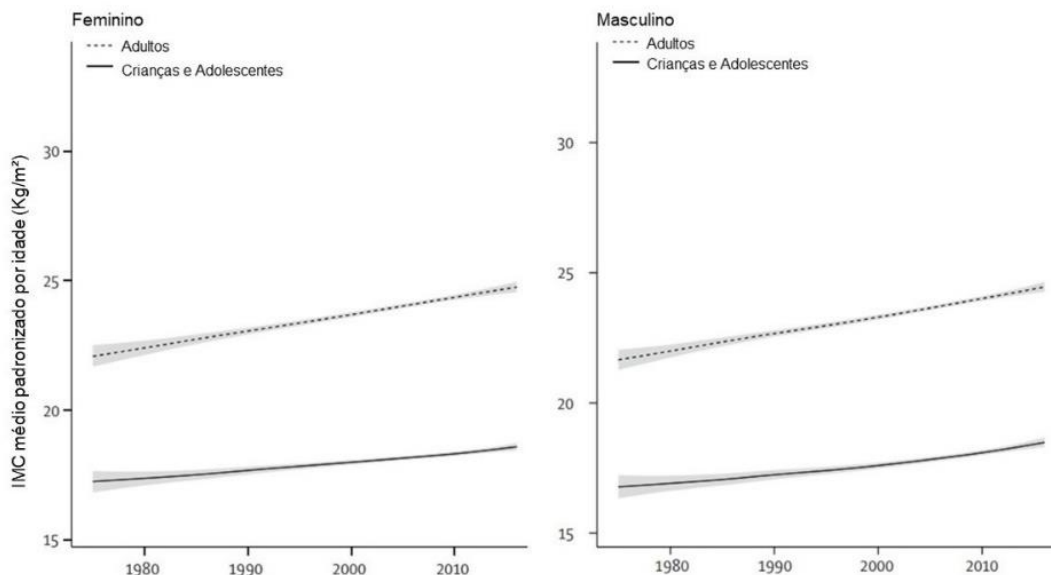
1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
	REFERÊNCIAS.....	25
2	ARTIGO CIENTÍFICO	29
	ANEXOS.....	50

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Embora o sobrepeso e a obesidade não sejam características antropométricas recentes, como evidenciado em achados arqueológicos como a Vênus de Willendorf, datada de 24.000 A.C. (LUSTIG; FENNOY, 2022), estes emergiram como um problema de saúde pública somente no século XX (BRAY, 2023), sendo a obesidade declarada como epidemia global em 1997 pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (HATHHOTUWA; WIJEYARATNE; SENARATH, 2020).

A métrica mais utilizada para o monitoramento destas condições é a relação entre peso e altura, denominada Índice de Massa Corpórea (IMC), a qual fornece uma classificação do estado nutricional. Quando o IMC apresenta valor igual ou maior a 25 kg/m^2 é classificado como excesso de peso. Um constante aumento global dessa métrica pode ser traçado em ambos os sexos e todas as faixas etárias, desde o ano de 1975 (NCD RISK FACTOR COLLABORATION (NCD-RISC), 2017) (Figura 1).

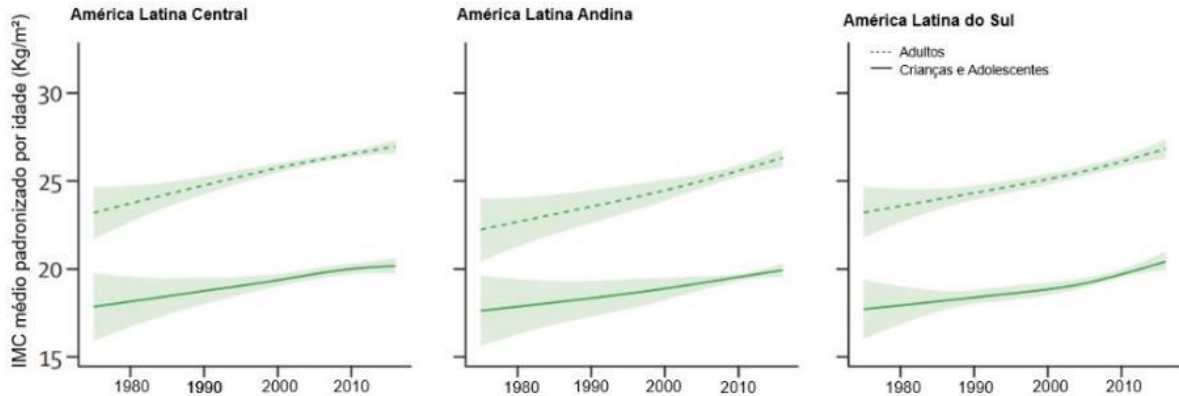
Figura 1 – Média global do índice de massa corpórea entre 1975 e 2016.



Fonte: Adaptado de NCD Risk Factor Collaboration (2017).

Historicamente, predominante na Europa e nos países falantes de língua inglesa com alta renda, o avanço da incidência do sobrepeso se estabilizou a partir dos anos 1990. Enquanto isso, regiões como a América Latina, em especial sua porção sul, tem visto um contínuo aumento do excesso de peso (NCD RISK FACTOR COLLABORATION (NCD-RISC), 2017) (Figura 2).

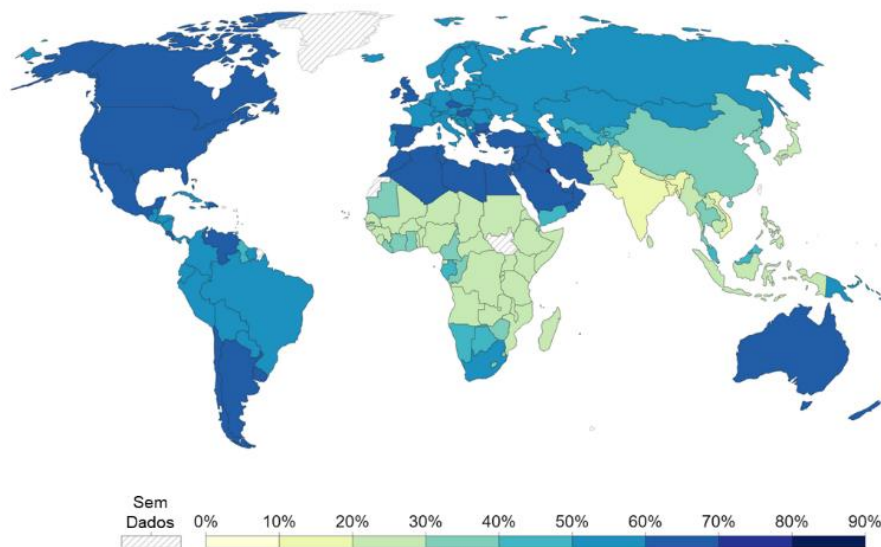
Figura 2 – Média do índice de massa corpórea entre 1975 e 2016 nas divisões geográficas da América Latina.



Fonte: Adaptado de NCD Risk Factor Collaboration (2017).

A situação global do excesso de peso em 2016, último relatório publicado pela OMS, pode ser observada na Figura 3. Embora o desenvolvimento do excesso de peso esteja atrelado a melhores indicadores econômicos e de desenvolvimento de um país, regiões historicamente colonizadas, como norte da África, Oriente Médio e América Latina, apresentam índices alarmantes. Na América Latina, com exceção da Guiana, os países apresentam mais de 50% da sua população acima dos índices recomendados de IMC. Dentre eles, o Brasil com 56,5% da sua população adulta apresentando sobrepeso ou obesidade (RITCHIE; ROSE, 2017).

Figura 3 - Ocorrência de excesso de peso da população adulta por país segundo relatório da Organização Mundial da Saúde de 2016.



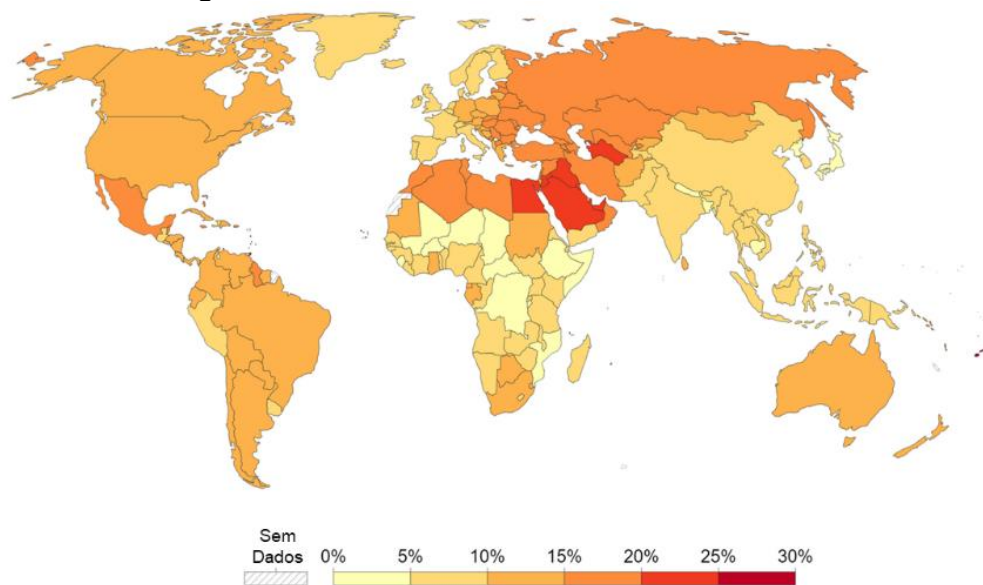
Fonte: WHO, Global Health Observatory

OurWorldInData.org/obesity • CC BY

Fonte: Modificado de Ritchie e Rose (2017).

A associação do excesso de peso, principalmente da obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²), com o desenvolvimento de diversas doenças, especialmente síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares, é bem definida (ANSARI; HABOUBI; HABOUBI, 2020). Desta forma, em 2019, estimou-se que cerca de 8,88% das mortes globais foram atribuídas a um IMC ≥ 25 kg/m² e suas decorrentes complicações (GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS, 2020; MURRAY et al., 2020) (Figura 4).

Figura 4 – Porcentagem de mortes atribuídas a obesidade, 2019.



Fonte: WHO, Global Burden of Disease (2019)

OurWorldInData.org/obesity • CC BY

Fonte: Modificado de Murray et al. (2020)

O Brasil apresenta historicamente um índice mais alarmante do que o global, tendo em 2019, 12,03% das mortes associadas à obesidade, com incidência de 76,17 mortes por 100 mil habitantes (GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS, 2020; MURRAY et al., 2020).

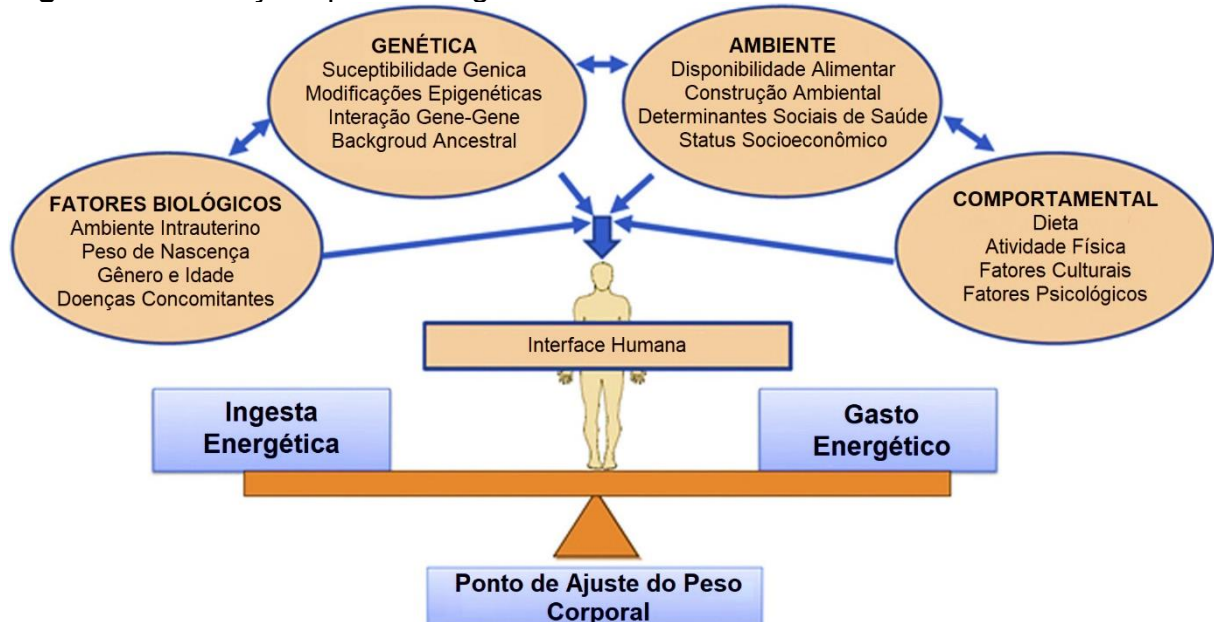
O sobrepeso e obesidade geraram custos globais estimados em 1,88 trilhões de dólares em 2019, cerca de 2,19% de toda produção doméstica bruta do mundo e, segundo projeções, devem custar cerca de 32,5 trilhões de dólares em 2060 (OKUNOGBE et al., 2021). No Brasil a estimativa de gasto de saúde com excesso de peso em 2019 foi de 654 milhões de dólares (FERRARI et al., 2022).

O estudo científico da fisiopatologia do acúmulo excessivo de peso remota ao século XIX, mas em vista do crescente transtorno global e individual imposto pela doença, os esforços e avanços científicos se intensificaram, em especial

a partir da década de 1980. Ao longo dos anos, diversos elementos contribuintes ao problema foram gradativamente sendo revelados e diversas hipóteses levantadas para explicar o desenvolvimento da doença (LUSTIG; FENNOY, 2022). Atualmente, os problemas advindos do sobrepeso e da obesidade são entendidos não somente como decorrentes do aumento do peso, mas em especial do acúmulo de tecido adiposo, tendo sido proposta uma nova classificação, a “Doença Crônica Baseada na Adiposidade” (DCBA), que engloba, não somente os casos de sobrepeso e obesidade, mas também indivíduos eutróficos com distúrbios metabólicos associados ao excesso de adiposidade (GARVEY, 2022).

A patogênese da DCBA possui derivação multifatorial, compreendendo variáveis genéticas, endócrinas, comportamentais, alimentares, ambientais e psicológicas. A interação dessas variáveis e suas contribuições na patogênese ainda é debatida, porém, o balanço energético positivo é tido como o contribuinte mais importante para o desenvolvimento da doença para o subgrupo da obesidade (GARVEY, 2022; LIN; LI, 2021). (Figura 5)

Figura 5 – Interações patofisiológicas no desenvolvimento da obesidade.



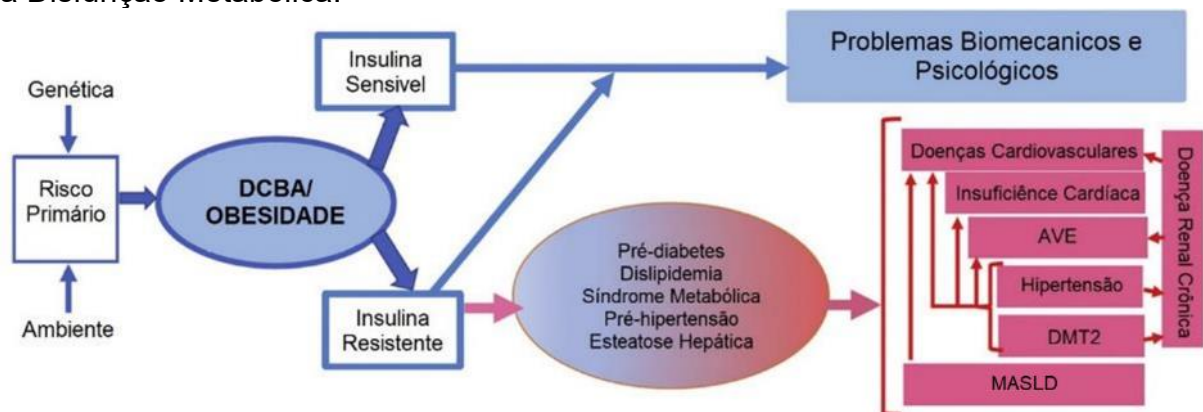
Fonte: Adaptado de Garvey (2022).

Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento da DCBA, a dieta constitui um dos principais. Diversas características de padrões alimentares já foram implicadas com o desenvolvimento e agravamento da DCBA. O consumo de carboidratos, açúcares e gorduras constitui as principais características macro

nutricionais ligadas ao desenvolvimento de DCBA, tanto pelo seu consumo excessivo quanto por seus efeitos diretos no metabolismo (CORDAIN et al., 2005; SANCRISTOBAL et al., 2020; WALI et al., 2021). Os níveis de processamento/purificação dos ingredientes também são propostos como fatores de desenvolvimento da DCBA, efeito atribuído tanto a sua composição nutricional quanto a sua hiper palatabilidade (VALICENTE et al., 2023).

O modelo de progressão da DCBA e suas complicações postula que um fator de risco primário pode levar ao acúmulo excessivo de tecido adiposo, constituindo o fator determinante no desenvolvimento das complicações e doenças relacionadas. O principal mecanismo pelo qual o excesso de tecido adiposo levaria a alterações metabólicas seria decorrente da resistência à insulina, que desencadearia suas complicações como a doença hepática gordurosa não alcoólica, diabetes tipo 2 e alterações cardiovasculares que, por fim, resultariam em doença renal crônica com retroalimentação das complicações vasculares (GARVEY, 2022). (Figura 6)

Figura 6 – Modelo da patogênese da Doença Crônica Baseada em Adiposidade. DCBA = Doença Crônica Baseada em Adiposidade; AVE = Acidente Vascular Encefálico; DMT2 = Diabetes Mellitus Tipo 2; MASLD = Esteatose Hepática Associada a Disfunção Metabólica.

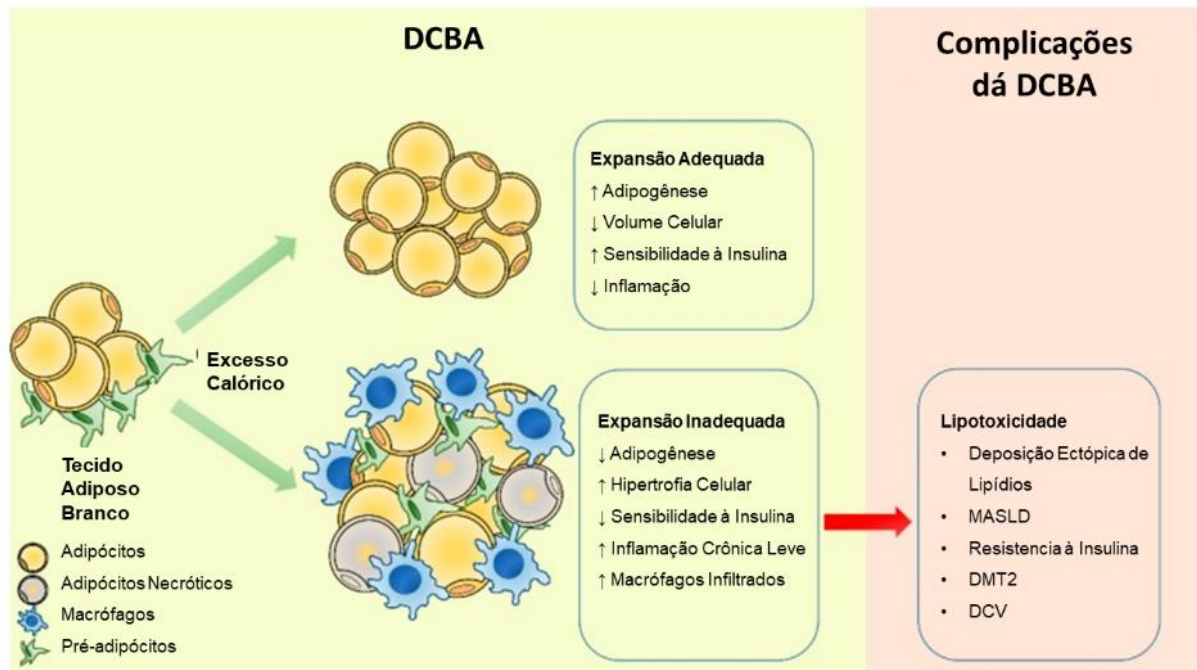


Fonte: Adaptado de Garvey (2022).

Os passos intermediários da progressão do acúmulo de tecido adiposo para o desenvolvimento da resistência insulínica, ou as associadas alterações hepáticas, cardiovasculares e síndrome metabólica, tem sido pontos de ativo debate e alvos de pesquisa científica (BARAZZONI et al., 2018). Acredita-se que o excesso nutricional crônico destinado ao tecido adiposo causa sua remodelação, promovendo o aumento dos depósitos por meio da expansão hipertrófica (aumento do tamanho dos adipócitos) e/ou hiperplásica (aumento do número de adipócitos). Uma expansão

do tecido adiposo branco adequada então levaria a uma remodelação e manutenção do estado metabólico saudável, e uma expansão inadequada a um estado doente do tecido com desenvolvimento das comorbidades (LONGO et al., 2019). (Figura 7).

Figura 7 – Expansão de tecido adiposo branco na Doença Crônica Baseada em Obesidade. DCBA = Doença Crônica Baseada em Adiposidade; MASLD = Esteatose Hepática Associada a Disfunção Metabólica; DMT2 = Diabetes Mellitus Tipo 2; DCV = Doenças Cardiovasculares.



Fonte: Adaptado de Longo et al. (2019)

A inadequada expansão do tecido adiposo provoca hipoxia tecidual e consequente aumento da morte celular, resultando em liberação de ácidos graxos livres (AGL), espécies reativas de oxigênio (ROS) e citocinas pró inflamatórias como a Proteína Quimiotática de Monócitos-1 (MCP-1), Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e Interleucinas 1 beta (IL-1 β) e 6 (IL-6). Esse ambiente causa o recrutamento de monócitos e uma modificação do fenótipo de macrófagos residentes no tecido adiposo de M2 (anti-inflamatório) para M1 (pró-inflamatório), que, por sua vez, aumenta a liberação de citocinas. As citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 são capazes de promover *per se* resistência à insulina por interferir na sinalização desta a partir da fosforilação do Substrato do Receptor de Insulina (IRS), dificultando sua cascata de sinalização (AHMED; SULTANA; GREENE, 2021).

Associado à inflamação, o aumento da disponibilidade de nutrientes, em especial açúcares e lipídios, promove modificações metabólicas oxidativas, como

a fissão mitocondrial, que leva à ineficiência oxidativa e consequente elevação de liberação de radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), especialmente nos tecidos relacionados à regulação energética. A formação de ROS pela oxidação de macronutrientes e o excesso de insulina super regulam a expressão da enzima NADPH oxidase tipo 4 (NOX4), que leva a uma exacerbação da produção de ERO (AHMED; SULTANA; GREENE, 2021).

O $O_2^{\cdot-}$ proveniente das mitocôndrias e NOX4 também podem ser convertidos em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela enzima Superóxido Dismutase, que, por sua vez, pode ser decomposto em água e O_2 pela enzima Catalase ou pela Glutathione Peroxidase, neutralizando o radical. No caso de excesso de ROS, o quadro de Estresse Oxidativo é instalado, superando a capacidade antioxidante do tecido e resultando na oxidação de macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos e lipídios. A oxidação de macromoléculas pode ocorrer diretamente pelo radical $O_2^{\cdot-}$ ou pela hidroxila (OH^{\cdot}), radical mais reativo formado a partir da catalisação de $O_2^{\cdot-}$ ou H_2O_2 por reação de Fenton. A oxidação de lipídios leva a um processo de propagação, na qual uma molécula de lipídio oxidado leva à oxidação de outro lipídio. Esse processo, caso não seja neutralizado em etapas específicas, através do sistema glutathione ou por antioxidantes não enzimáticos, como vitaminas C e E, causa uma reação em cadeia, resultado na produção de aldeídos, como o malonaldeído, a partir da degradação dos lipídios peroxidados (PIZZINO et al., 2017). Esse estado oxidativo não se restringe somente ao tecido de origem, mas pode ser percebido de forma sistêmica no sangue, tanto por formas enzimáticas específicas do ambiente extracelular, como por extravasamento das formas intracelulares para o meio extra (LEWANDOWSKI; KEPINSKA; MILNEROWICZ, 2020; PICKLO; LONG; VOMHOF-DEKREY, 2015).

A ocorrência de isoformas específicas de meio extracelular e a atuação do ácido úrico como principal antioxidante não enzimático do sangue (SAUTIN et al., 2007) demonstram a importância da regulação do balanço oxidativo, não somente tecidual, mas também sistêmico. O ácido úrico representa cerca de 60% do poder antioxidante não enzimático do sangue, porém apresenta potencial patológico, quando em concentrações elevadas. A hiperuricemia promove o aumento das concentrações intracelulares de ácido úrico para patamares relevantes, capazes de promover a inibição da sinalização insulínica (HAN; ZHANG; JIANG, 2022), gerar uma resposta oxidativa pela ativação do receptor Toll Like-4 (TLR-4) e consequente

elevação da atividade de NOX-4, e uma resposta inflamatória pela estimulação da enzima xantina oxidase, resultando no aumento de ROS e de MCP-1 (RUSSO et al., 2020).

O estresse oxidativo sistêmico já foi demonstrado na obesidade (MANNA; JAIN, 2015, 2015) e está relacionado ao desenvolvimento e mortalidade de diversas outras doenças, em especial as comorbidades promovidas pela obesidade, como doenças cardiovasculares e renais (HERTIŠ PETEK et al., 2022; RAPA et al., 2019). A oxidação de proteínas causa inativação enzimática, levando a alterações na sinalização da insulina e, em paralelo, a oxidação de ácidos nucleicos, estimula a inflamação (AHMED; SULTANA; GREENE, 2021). Os produtos da degradação de lipoperoxidação também são capazes de reagir com outras macromoléculas, gerando Produtos Finais de Lipoperoxidação Avançada (ALE), os quais promovem a inativação enzimática, além de interagir com seu receptor RAGE (receptor de produtos finais de glicação avançada), que aumenta a ativação das NOX-4 e a expressão de genes inflamatórios (ARIVAZHAGAN et al., 2022).

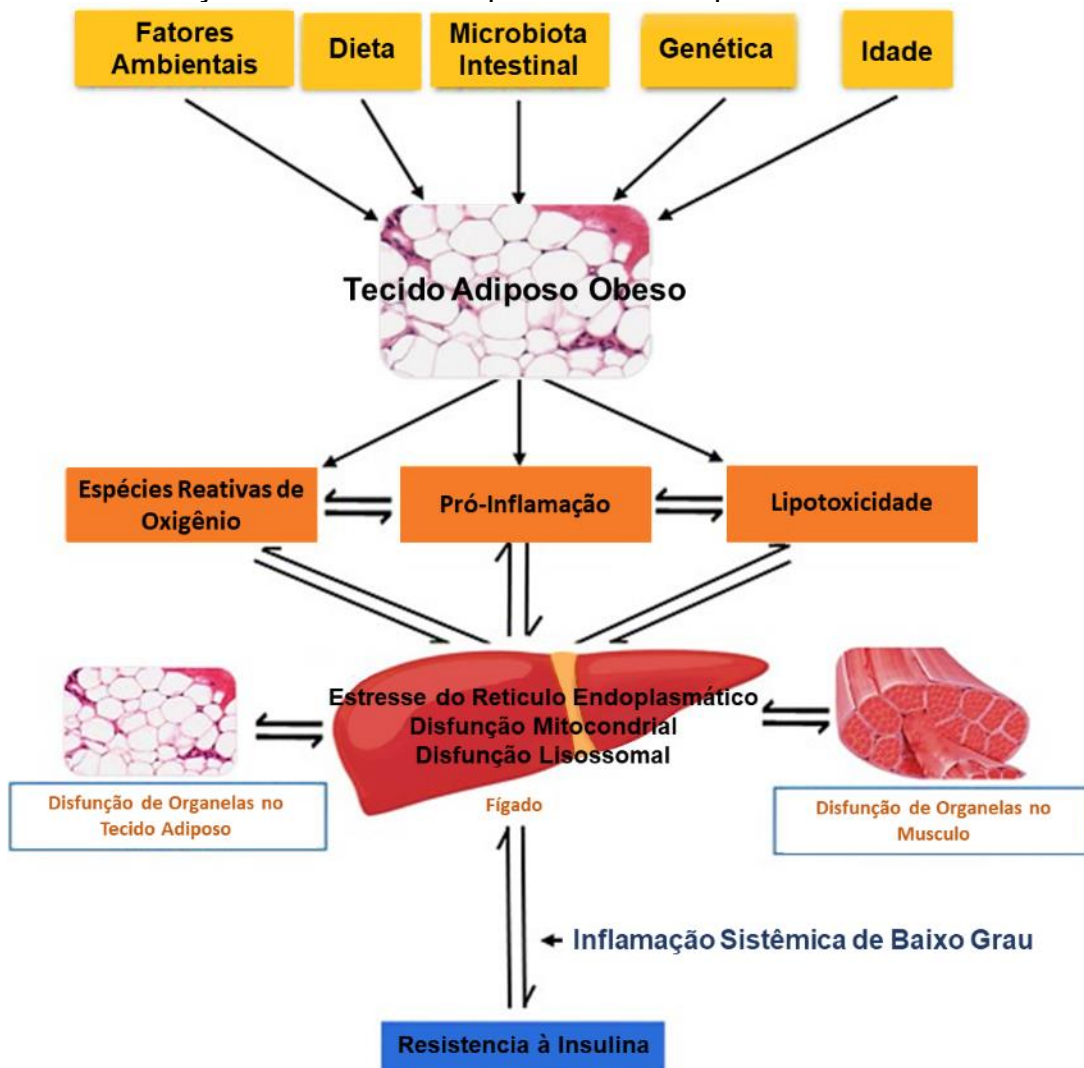
O excesso da concentração sérica de monossacarídeos, capaz de promover disfunção metabólica e estresse oxidativo devido à demanda de fosforilação oxidativa, também pode levar à formação de glicados, conjugação não enzimática de carboidratos com outras macromoléculas, resultando em produto finais de glicação avançada (AGE) (AHMED; SULTANA; GREENE, 2021; HOSSEINI; ABEDIANKENARI; RASOULI, 2023). Esses AGE atuam com os ALE através da interação com o RAGE, promovendo aumento das ROS e inflamação (ARIVAZHAGAN et al., 2022). Além disso, o excesso de AGL, advindos das modificações metabólicas decorrentes da obesidade ou da alimentação, é capaz de promover lipotoxicidade devido ao acúmulo excessivo de lipídios em outros tecidos que não o adiposo (deposição ectópica), em especial no fígado. Esta deposição ectópica desencadeia estresse oxidativo e inflamação pelos mecanismos já descritos e pela produção de metabólitos tóxicos, como ceramidas e diacil-glicerol, alterando a sinalização insulínica (AHMED; SULTANA; GREENE, 2021).

O aumento de AGL também está relacionado à formação de lipopolisacarídeos (LPS) devido à glicação, constituindo também um componente de lipotoxicidade. Os LPS atuam como os AGL na promoção de estresse oxidativo e inflamação, além de estimular o acúmulo de triglicerídeos mediado pela sinalização do receptor TL-4 e ativação da via MAPK/NF- κ B, levando à expressão de genes e

síntese de citocinas pró-inflamatórias. Os LPS também são capazes de interagir diretamente com caspases, promovendo estímulo inflamatório por formação de inflamossoma (AHMED; SULTANA; GREENE, 2021).

A inflamação, o estresse oxidativo e a lipotoxicidade formam uma complexa rede de interação, que leva à disfunção celular e tecidual, ocasionando resistência à insulina, inflamação sistêmica de baixo grau e estresse oxidativo sistêmico (AHMED; SULTANA; GREENE, 2021). A resistência insulínica promovida pela DCBA, por sua vez, cria um “loop” de “feedback” positivo, elevando a concentração sérica de glicose e alterando o metabolismo energético, levando à produção de mais AGE (HOSSEINI; ABEDIANKENARI; RASOULI, 2023) e retroalimentando o processo. (Figura 8)

Figura 8 – Disfunção celular induzida pela obesidade promove resistência à insulina.



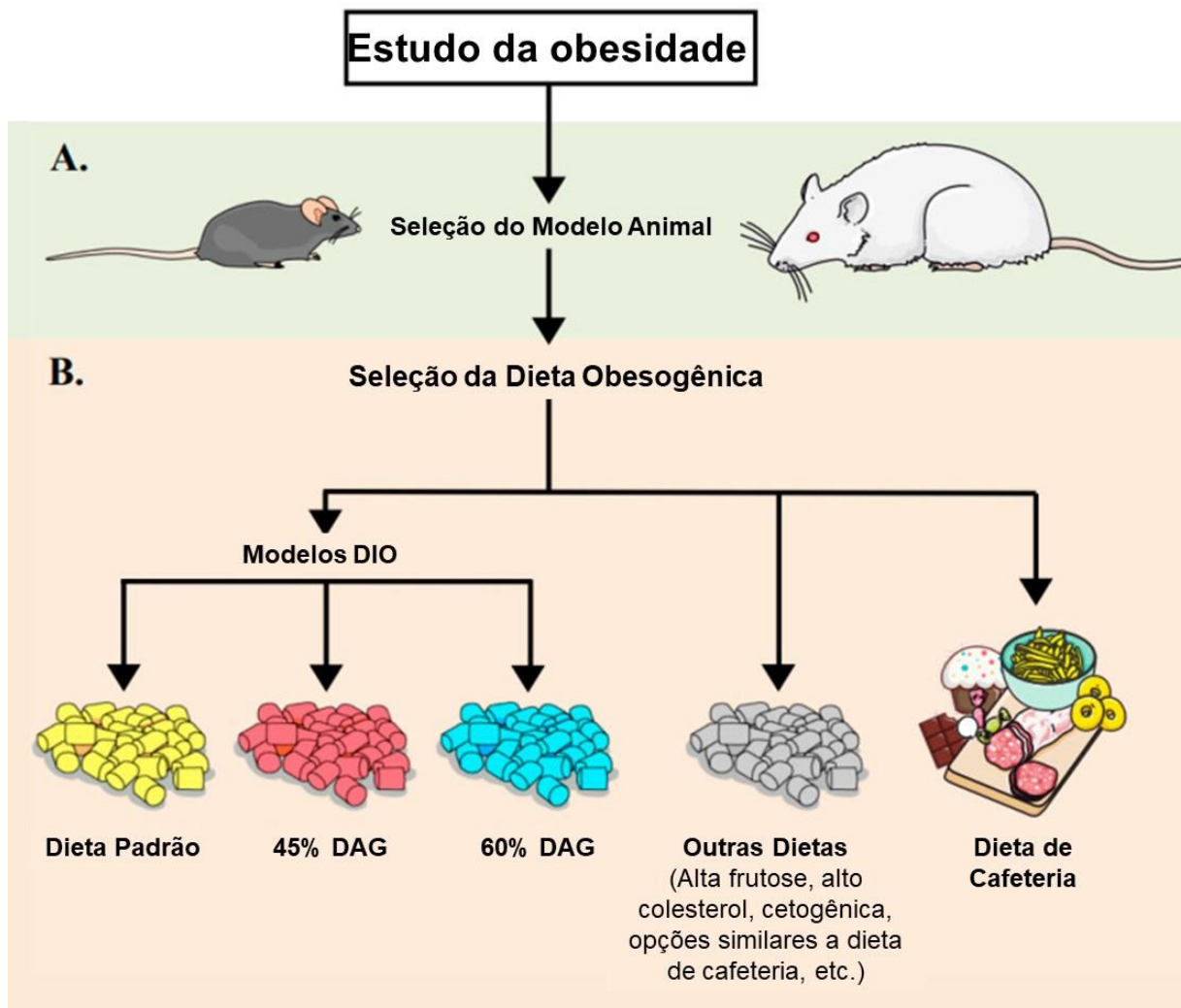
Fonte: Adaptado de Ahmed, Sultana e Greene (2021)

Essas alterações metabólicas hepáticas promovidas durante o desenvolvimento da DCBA promovem dislipidemia. Tipicamente, há a elevação de triglicerídeos, colesterol total e da fração de colesterol não HDL (n-HDL), bem como a diminuição do colesterol de alta densidade (HDL) (KLOP; ELTE; CABEZAS, 2013). O aumento dos triglicerídeos se dá especialmente pela falta de inibição da insulina sobre a síntese hepática de lipoproteína de baixíssima densidade (VLDL) e diminuição da atividade da lipoproteína lipase (LPL) no tecido adiposo e muscular, principal mediador da remoção de VLDL circulante (KLOP; ELTE; CABEZAS, 2013). O aumento do VLDL estimula sua utilização como substrato para transferência de triglicerídeos deste para lipoproteína de baixa densidade (LDL) e para o HDL, resultando na redução de HDL e formação de LDL rico em triglicerídeos, que é metabolizado pela lipase hepática em LDL pequeno e denso (LDL-pd), principal fração aterosclerótica (KLOP; ELTE; CABEZAS, 2013; ORMAZABAL et al., 2018).

Todas as alterações metabólicas provenientes da DCBA são fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, a principal causa direta de mortes no mundo (ADHIKARY et al., 2022). A resistência à insulina modifica a resposta metabólica e a sinalização do miocárdio, que somada à lipotoxicidade, leva à inflexibilidade metabólica, com redução da capacidade oxidativa e consequente alteração contrátil (ORMAZABAL et al., 2018). A inflamação e o estresse oxidativo sistêmico, somados à produção de AGE, juntamente com as dislipidemias, em especial altos níveis de LDL-pd e colesterol oxidados, geram alterações da permeabilidade vascular, dano celular, comprometimento de sinalização e arterogênese, ocasionando elevação da resistência vascular e lesões endoteliais (ITABE; OBAMA, 2023; ORMAZABAL et al., 2018).

Para elucidação dos diversos mecanismos patológicos da obesidade os modelos animais são fundamentais, sendo amplamente utilizados. Diversas formas de indução de obesidade foram desenvolvidas, entre estas, modelos neurotóxico (HERNÁNDEZ BAUTISTA et al., 2019), genéticos, cirúrgicos e dietéticos (SULEIMAN; MOHAMED; BAKAR, 2020). Os modelos dietéticos são provavelmente os mais adequados e fidedignos na indução da obesidade por melhor simularem a patogênese humana (ZHANG et al., 2022). Dentre as diversas abordagens dietéticas para indução da obesidade, os principais modelos utilizados são a dieta de cafeteria, composta por alimentos humanos ultraprocessados, e as dietas comerciais purificadas de alta teor de lipídios (DIO) (BASTÍAS-PÉREZ; SERRA; HERRERO, 2020) (Figura 9).

Figura 9 – Seleção do modelo animal e dietético para o estudo em obesidade.



Fonte: Adaptado de Bastías-Pérez, Serra e Herrero (2020).

Esses modelos foram historicamente fundamentais em sua contribuição no entendimento do desenvolvimento e das complicações associadas à obesidade derivadas da nutrição. Entretanto, algumas limitações têm sido apontadas pela comunidade científica (BASTÍAS-PÉREZ; SERRA; HERRERO, 2020; DE MOURA E DIAS et al., 2021; SPEAKMAN, 2019).

A dieta de cafeteria, por exemplo, não possui uma padronização dos elementos nutricionais fornecidos, podendo variar dentro do mesmo estudo ao longo dos dias. Além disso, é caracterizada por permitir a livre seleção dos alimentos pelos animais, tornando extremamente difícil o monitoramento da composição nutricional da ingesta alimentar destes animais (BASTÍAS-PÉREZ; SERRA; HERRERO, 2020).

As dietas comerciais de alta gordura também apresentam limitações.

As opções mais comuns são as dietas contendo 60% das suas calorias advindas de gordura, extremamente eficientes em promover rápido ganho de peso, com desenvolvimento de alterações metabólicas em relativo curto período. Entretanto, os padrões metabólicos desenvolvidos pelos animais não são condizentes com o humano. Por isso, tem-se recomendado a adoção de modelos como o de 45%, que reduz os teores de gordura alimentar a patamares mais similares ao humano, gerando alterações metabólicas mais correspondentes. Embora os modelos de 45% sejam hoje mais recomendados, o uso dos modelos de 60% é predominante na literatura (BASTÍAS-PÉREZ; SERRA; HERRERO, 2020; SPEAKMAN, 2019).

Esses modelos comerciais também se utilizam de dietas completamente purificadas, tanto em sua ração controle quanto em suas rações de alta gordura (HARIRI; THIBAUT, 2010), representando a comparação entre 2 tipos de alimentação completamente ultraprocessada, sem comparativo com um modelo de dieta recomendada em questão de qualidade nutricional. Nos últimos anos trabalhos, alguns trabalhos levantaram questões sobre este tipo de dieta e levantaram novas limitações relacionadas ao grau de purificação da dieta (CHENG et al., 2019; ZHANG et al., 2022). Um terceiro ponto questionado sobre os modelos comerciais são sua diversidade na composição nutricional, sendo os macronutrientes, em especial a gordura das dietas derivados de uma ou no máximo duas fontes distintas (MONSANTO et al., 2016).

Como estes modelos acabam assim por não representar as características alimentares em humanos, tanto em sua variedade quanto em sua resposta metabólica, a busca por modelos mais miméticos se faz necessária (BASTÍAS-PÉREZ; SERRA; HERRERO, 2020; SPEAKMAN, 2019). Poucos trabalhos têm explorado o uso de modelos similares a dieta e suas repercussões no desenvolvimento da obesidade (CHEHADE et al., 2022). Monsanto *et al.* (2016) demonstraram a maior complexidade na relação dieta e obesidade, sendo incapaz de induzir o desenvolvimento DCBA nos animais com um modelo similar à dieta ocidental (MONSANTO et al., 2016).

Na tentativa de melhor elucidar os mecanismos patológicos e os dados conflitantes no desenvolvimento da DCBA, formulamos duas rações, semi-purificadas/processadas, com uma matriz nutricional diversa e composição mais aproximada a padrões de dieta humana e caracterizamos seus efeitos sobre o ganho de peso, desenvolvimento da DCBA, alterações morfológicas hepáticas e adiposas e

estresse oxidativo em animais adultos.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARY, D. et al. A Systematic Review of Major Cardiovascular Risk Factors: A Growing Global Health Concern. **Cureus**, v. 14, n. 10, p. e30119, 10 out. 2022.
- AHMED, B.; SULTANA, R.; GREENE, M. W. Adipose tissue and insulin resistance in obese. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 137, p. 111315, maio 2021.
- ANSARI, S.; HABOUBI, H.; HABOUBI, N. Adult obesity complications: challenges and clinical impact. **Therapeutic advances in endocrinology and metabolism**, v. 11, n. 6, p. 2042018820934955, 22 jan. 2020.
- ARIVAZHAGAN, L. et al. Glycation and a Spark of ALEs (Advanced Lipoxidation End Products) - Igniting RAGE/Diaphanous-1 and Cardiometabolic Disease. **Frontiers in cardiovascular medicine**, v. 9, p. 937071, 24 jun. 2022.
- BARAZZONI, R. et al. Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. **Eating and weight disorders : EWD**, v. 23, n. 2, p. 149–157, 3 abr. 2018.
- BASTÍAS-PÉREZ, M.; SERRA, D.; HERRERO, L. Dietary Options for Rodents in the Study of Obesity. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 3234, 22 out. 2020.
- BRAY, G. A. Beyond BMI. **Nutrients**, v. 15, n. 10, p. 2254, 10 maio 2023.
- CHEHADE, S. B. et al. A modified standard American diet induces physiological parameters associated with metabolic syndrome in C57BL/6J mice. **Frontiers in nutrition**, v. 9, p. 929446, 29 ago. 2022.
- CHENG, H. S. et al. Purified ingredient-based high-fat diet is superior to chow-based equivalent in the induction of metabolic syndrome. **Journal of food biochemistry**, v. 43, n. 2, p. e12717, fev. 2019.
- CORDAIN, L. et al. Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 2, p. 341–54, fev. 2005.
- DE MOURA E DIAS, M. et al. Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 13, n. 1, p. 32, 18 mar. 2021.
- FERRARI, G. et al. The economic burden of overweight and obesity in Brazil: perspectives for the Brazilian Unified Health System. **Public health**, v. 207, p. 82–87, jun. 2022.
- GARVEY, W. T. Is Obesity or Adiposity-Based Chronic Disease Curable: The Set Point Theory, the Environment, and Second-Generation Medications. **Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**, v. 28, n. 2, p. 214–222, fev. 2022.

HAN, R.; ZHANG, Y.; JIANG, X. Relationship Between Four Non-Insulin-Based Indexes of Insulin Resistance and Serum Uric Acid in Patients with Type 2 Diabetes: A Cross-Sectional Study. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy**, v. 15, p. 1461–1471, maio 2022.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition research reviews**, v. 23, n. 2, p. 270–99, 27 dez. 2010.

HATHHOTUWA, R. N.; WIJEYARATNE, C. N.; SENARATH, U. Worldwide epidemic of obesity. **Obesity and Obstetrics**, p. 3–8, 1 jan. 2020.

HERNÁNDEZ BAUTISTA, R. J. et al. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 111, p. 503–516, mar. 2019.

HERTIŠ PETEK, T. et al. Systemic Inflammation, Oxidative Stress and Cardiovascular Health in Children and Adolescents: A Systematic Review. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 5, p. 894, 30 abr. 2022.

HOSSEINI, S.; ABEDIANKENARI, S.; RASOULI, M. Serum total carbohydrates, conjugated carbohydrates and total protein glycation index in diabetes mellitus. **Glycoconjugate journal**, v. 40, n. 3, p. 375–381, 15 jun. 2023.

ITABE, H.; OBAMA, T. The Oxidized Lipoproteins In Vivo: Its Diversity and Behavior in the Human Circulation. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 6, p. 5747, 17 mar. 2023.

MANNA, P.; JAIN, S. K. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. **Metabolic syndrome and related disorders**, v. 13, n. 10, p. 423–44, dez. 2015.

KLOP, B.; ELTE, J. W. F.; CABEZAS, M. C. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1218–40, 12 abr. 2013.

LEWANDOWSKI, Ł.; KEPINSKA, M.; MILNEROWICZ, H. Alterations in Concentration/Activity of Superoxide Dismutases in Context of Obesity and Selected Single Nucleotide Polymorphisms in Genes: SOD1, SOD2, SOD3. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 14, p. 5069, 17 jul. 2020.

LIN, X.; LI, H. Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. **Frontiers in endocrinology**, v. 12, p. 706978, 6 set. 2021.

LONGO, M. et al. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 9, p. 2358, 13 maio 2019.

LUSTIG, R. H.; FENNOY, I. The History of Obesity Research. **Hormone research in paediatrics**, v. 95, n. 6, p. 638–648, 2022.

MANNA, P.; JAIN, S. K. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. **Metabolic**

Syndrome and Related Disorders, v. 13, n. 10, p. 423–444, dez. 2015.

MONSANTO, S. P. et al. The new total Western diet for rodents does not induce an overweight phenotype or alter parameters of metabolic syndrome in mice. **Nutrition research (New York, N.Y.)**, v. 36, n. 9, p. 1031–1044, set. 2016.

MURRAY, C. J. L. et al. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, v. 396, n. 10258, p. 1223–1249, out. 2020.

NCD RISK FACTOR COLLABORATION (NCD-RISC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. **Lancet (London, England)**, v. 390, n. 10113, p. 2627–2642, 16 dez. 2017.

OKUNOGBE, A. et al. Economic impacts of overweight and obesity: current and future estimates for eight countries. **BMJ global health**, v. 6, n. 10, p. e009773, 20 out. 2021.

ORMAZABAL, V. et al. Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. **Cardiovascular diabetology**, v. 17, n. 1, p. 122, 31 ago. 2018.

PICKLO, M. J.; LONG, E. K.; VOMHOF-DEKREY, E. E. Glutathionyl systems and metabolic dysfunction in obesity. **Nutrition reviews**, v. 73, n. 12, p. 858–68, dez. 2015.

PIZZINO, G. et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, p. 8416763, 2017.

RAPA, S. F. et al. Inflammation and Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease-Potential Therapeutic Role of Minerals, Vitamins and Plant-Derived Metabolites. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 1, p. 263, 30 dez. 2019.

RITCHIE, H.; ROSE, M. **Obesity**. Disponível em: <<https://ourworldindata.org/obesity>>. Acesso em: 6 set. 2023.

RUSSO, E. et al. Fructose and Uric Acid: Major Mediators of Cardiovascular Disease Risk Starting at Pediatric Age. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 12, p. 4479, 24 jun. 2020.

SAN-CRISTOBAL, R. et al. Contribution of macronutrients to obesity: implications for precision nutrition. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 16, n. 6, p. 305–320, 31 jun. 2020.

SAUTIN, Y. Y. et al. Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. **American journal of physiology. Cell physiology**, v. 293, n. 2, p. C584-96, ago. 2007.

SPEAKMAN, J. R. Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. **International journal of obesity (2005)**, v. 43, n. 8, p. 1491–1492, 9 ago. 2019.

SULEIMAN, J. B.; MOHAMED, M.; BAKAR, A. B. A. A systematic review on different

models of inducing obesity in animals: Advantages and limitations. **Journal of advanced veterinary and animal research**, v. 7, n. 1, p. 103–114, mar. 2020.

VALICENTE, V. M. et al. Ultraprocessed Foods and Obesity Risk: A Critical Review of Reported Mechanisms. **Advances in nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 14, n. 4, p. 718–738, jul. 2023.

GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **Lancet (London, England)**, v. 396, n. 10258, p. 1204–1222, 17 out. 2020.

WALI, J. A. et al. Macronutrient Determinants of Obesity, Insulin Resistance and Metabolic Health. **Biology**, v. 10, n. 4, p. 336, 16 abr. 2021.

ZHANG, L. et al. Purified diet versus whole food diet and the inconsistent results in studies using animal models. **Food & function**, v. 13, n. 8, p. 4286–4301, 20 abr. 2022.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

Elaborado para submissão no periódico *European Journal of Nutrition* (IF: 5.0; Qualis: A1), em conformidade com as normas disponíveis em: <https://www.springer.com/journal/394/submission-guidelines>

EFEITOS DO CONSUMO DE RAÇÕES SEMIPURIFICADAS COM DIFERENTES COMPOSIÇÕES NUTRICIONAIS NO PERFIL METABÓLICO, NO TECIDO ADIPOSEO E NO FÍGADO DE RATOS ADULTOS

Pedro Rocha Tenorio¹, Gabriel Smolak Sobieski e Silva¹, Débora Hipólito Quadreli², Gisele Lopes Bertolini¹, Priscila Cassolla¹, Glaura Scantamburlo Alves Fernandes¹, Fábio Goulart de Andrade¹

¹Universidade Estadual de Londrina (Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas), Londrina (Paraná), Brasil

²Universidade Estadual de Londrina (Programa de Pós-graduação em Patologia Experimental), Londrina (Paraná),
Brasil

RESUMO

Propósito

Avaliar os efeitos obesogênicos, metabólicos e oxidativos de duas dietas semipurificadas, cada uma com diferentes concentrações de gordura e açúcar, em comparação com uma dieta integral.

Métodos

Ratos Wistar, 90 dias de idade, distribuídos em 3 grupos, foram alimentados com 3 rações distintas durante 10 semanas: controle (C), ração semipurificada normocalórica normolipídica (NL), ração semipurificada hipercalórica hiperlipídica hiperglicêmica (HLG). Análises histopatológicas, testes de tolerância à glicose e à insulina, assim como análise sorológica foram realizadas para investigação do estado metabólico glicolipídico e parâmetros oxidativos sistêmico dos animais.

Resultados

Animais NL apresentaram exacerbado ganho de peso com hipertrofia do tecido adiposo sem alteração metabólica glicolipídica ao estresse oxidativo, condizente com Obesidade Metabolicamente Saudável. Os animais HLG não apresentaram ganho de peso, mas tiveram acentuado resistência à insulina e hipercolesterolemia, esteatose e glicogenose hepática, com hipertrofia e hiperplasia adiposa e estado de estresse oxidativo sistêmico, condizente com Distúrbio Metabólico sem Obesidade.

Conclusão

Apenas o consumo de uma alimentação processada e consequente desenvolvimento de obesidade não é suficiente para desencadear distúrbios metabólicos a médio prazo, sendo necessário o concomitante consumo de alimentação rica em gorduras e açúcares com o aumento da adiposidade e alteração hepática para o rápido desenvolvimento de distúrbio metabólico em ratos Wistar machos adultos.

Palavras-chave: Obesidade. Dieta de alta gordura. Estresse oxidativo. Esteatose hepática. Síndrome Metabólica.

DECLARAÇÃO

Conflito de interesses: Os autores declaram não possuir conflito de interesse

INTRODUÇÃO

Desde 1997, o excesso de peso (Índice de massa corpórea (IMC) $> 25 \text{ kg/m}^2$) é classificado como epidemia global, tendo atingido 39% da população mundial em 2016 [1]. O excesso de peso, em especial a obesidade (IMC $>30 \text{ kg/m}^2$) é uma doença diretamente associada ao desenvolvimento e agravamento de diversas comorbidades como a diabetes tipo 2, síndrome metabólica [2] e doenças cardiovasculares, a principal causa de morte global [3]. A etiologia desta doença tem caráter multifatorial, com componentes genéticos, ambientais e comportamentais, sendo principalmente atribuída à nutrição inadequada [4]. Diversos padrões alimentares foram associados ao seu desenvolvimento, principalmente o consumo excessivo de açúcares refinados, gorduras e alimentos processados [5–8]. O acúmulo de peso, especialmente de adiposidade visceral, é tido como o elemento chave para as alterações metabólicas da obesidade, como estresse oxidativo, inflamação, resistência à insulina e dislipidemia, os quais causam danos a outros órgãos e o desenvolvimento de comorbidades [9].

A obesidade tem sido extensivamente estudada ao longo do último século [10], principalmente através da experimentação em animais para elucidação dos seus mecanismos fisiopatológicos, com modelos neurotóxicos [11], cirúrgicos, genéticos e, em especial, dietéticos [12]. Estes modelos dietéticos possivelmente são os melhores em simular o desenvolvimento da obesidade e de suas comorbidades em humanos, porém apresentam limitações. A falta de padronização das dietas, assim como a composição extrema, em geral composta por 60% das calorias provenientes de gordura, limitam a interpretação dos achados e dificilmente representam a alimentação e o metabolismo humanos [13–15]. A fim de reduzir as limitações deste tipo de modelo, a redução dos níveis de gordura da dieta tem sido requisitada [14].

O grau de processamento/purificação da dieta é um aspecto pouco abordado na literatura. Os modelos tipicamente empregados se baseiam em dietas completamente purificadas e restrita matriz nutricional, porém este tipo de alimentação também é falho em simular a dieta humana. A purificação da dieta apresenta efeitos metabólicos específicos, com maior disponibilidade energética devido à redução da termogênese [16], redução do consumo de diversos bioativos [17] capazes de modular a digestibilidade de macronutrientes [18] e promover efeitos benéficos sobre o desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades [19, 20]. Estudos recentes têm tentado contornar essas limitações, ressaltando o efeito da matriz nutricional [21] e investigando padrões alimentares mais próximos ao humano [22, 23]. Entretanto, os trabalhos que investigaram tais limitações produziram resultados inconsistentes, nem sempre reproduzindo os danos metabólicos esperados, demonstrando assim uma maior complexidade na interação entre dieta e desenvolvimento de obesidade [23, 24].

A hipótese inicial deste estudo postulava que uma dieta semipurificada, com baixas concentrações de gordura e sem adição de açúcares, não resultaria em ganho excessivo de peso nem em grandes alterações metabólicas. Por outro lado, esperava-se que uma dieta semipurificada, com altas concentrações de gordura e açúcares adicionados, levasse a um aumento significativo de peso nos animais, especialmente em tecido adiposo, e conseqüentemente promovesse danos metabólicos associados ao excesso de peso e adiposidade. Com o intuito de fornecer uma compreensão mais abrangente das interações nutricionais e dos mecanismos subjacentes ao desenvolvimento da obesidade, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos obesogênicos, metabólicos e oxidativos de duas dietas semipurificadas, cada uma com diferentes teores de gordura e açúcar, em comparação com uma dieta integral. Este trabalho também aborda novos tópicos relevantes para a formulação aprimorada de dietas-modelo que possam induzir doenças relacionadas à alimentação.

MÉTODOS

Animais

15 Ratos Wistar machos, 90 dias de idade, peso entre 375 e 425 g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade de Londrina, foram alocados em grupos de 2 a 3 animais por gaiola, mantidos por 73 dias [25] em ambiente com temperatura controlada ($22\pm 1^\circ\text{C}$), com água e ração *ad libitum*, em ciclo de claro escuro (12/12h) e início de fotoperíodo às 7h. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em 3 grupos (n=5): grupo controle (C), alimentado com ração comercial integral Nuvilab CR1® (Quimtia, Brasil); grupo NL, alimentado com ração semipurificada, normocalórica e normolipídica; grupo HLG, alimentado com ração semipurificada, hipercalórica hiperlipídica e hiperglicêmica. Nos 64º e 67º dia experimentais, os animais foram submetidos a um teste de tolerância à glicose (GTT) e à insulina (ITT), respectivamente. A eutanásia foi realizada no 73º dia experimental.

Preparação e Composição Nutricional, Ingesta Alimentar, Líquida e Ganho de Peso Corpóreo.

As rações semipurificadas foram preparadas em laboratório com secagem em estufa a 65°C por 72 h, suas formulações estão apresentadas no Material Online 1. As rações semipurificadas foram baseadas na NRC-95G a fim de garantir uma adequada nutrição sem promoção de nenhuma deficiência alimentar [26] e suas composições nutricionais estão expressas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição Nutricional Das Diferentes Rações Utilizadas

	C	NL	HLG
Energia (kcal/kg)	3437	3704	4663
Carboidratos totais (%kcal)	63	71	36
Açúcares Adicionados (%kcal)	0	0	10
Lípideos (%kcal)	11	14	49
Proteína (%kcal)	26	15	15
Fibra (g/kg)	76	73	87
Colesterol (mg/kg)	0	380	652

A ingestão alimentar e a hídrica foram calculadas segundo o método de resto-ingesta e corrigidos pelo número de animais por caixa. A eficiência alimentar foi calculada pelo ganho de peso por consumo calórico acumulado semanalmente [27]. O ganho de peso foi expresso em relação ao peso basal dos animais.

Teste de tolerância a glicose e a insulina intraperitoneal

Após restrição alimentar de 6 h, os animais foram aclimatados por 30 min em uma sala silenciosa, com temperatura controlada (22°C). Às 14 h, a extremidade da cauda dos animais foi cortada e uma gota de sangue foi utilizada para determinação da glicemia capilar em glicosímetro G-Tech Lite (G-Tech, Brasil). No GTT, após a determinação da glicemia basal, 1 mg/kg de glicose em solução de 25% (p/v) foi administrada através de injeção intraperitoneal (i.p.). A glicemia capilar foi aferida em 15, 30, 60 e 90 min após a administração de glicose. No ITT, após a aferição da glicemia basal nas mesmas condições que o GTT, foi administrada i.p. 0,75 UI/kg de insulina lisopro (Humalog®, Eli Lilly, Brasil). A glicemia capilar foi aferida em 5, 10, 15, 30, 60 min após a administração da insulina [28].

Coleta de Amostras Biológicas

Após período de restrição alimentar de 6-8h, os animais foram anestesiados com Quetamina e

Xilazina (100 mg/kg e 10 mg/kg). O sangue dos animais foi coletado pela veia cava inferior em tubos com ativador de coágulo e gel separador (FirstLab, Brasil). A eutanásia foi realizada por dissecação de diafragma. O fígado, os tecidos adiposos inguinal (tAI) e retroperitoneal (tAR) foram dissecados, lavados em PBS 0,1 M gelado e pesados. Um fragmento do lóbulo hepático lateral esquerdo, assim como o tAI e tAR esquerdo, foram fixados em paraformaldeído 4% por 24 h. Frações do lóbulo hepático lateral esquerdo foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C. O sangue coletado foi centrifugado a 12000 g por 10 min, o soro foi separado e armazenado a -20 °C.

Análise Sorológica

As concentrações séricas de frutossaminas, triglicerídeos, colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (HDL) e ácido úrico foram determinadas com a utilização de kits comerciais, segundo especificações do fabricante (Vida Biotecnologia, Brasil) e a de ácidos graxos livres (AGL) por método colorimétrico [29]. A concentração sérica de glicerol foi dosada com modificação do kit de triglicerídeos, a partir da adição de NaCl 1 M e utilizada para correção da concentração de triglicerídeos [30].

Análise Histológica

Lâminas histológicas foram preparadas com cortes não seriados de 5 µm de espessura. Cortes de fígado foram corados com hematoxilina e eosina (HE) para verificação de Doença Hepática Esteatótica Associada à Disfunção Metabólica (MASLD) [31] ou submetidos à reação de ácido periódico de Schiff, para evidenciação de glicogênio [32]. O tecido adiposo foi corado com HE, para determinação do tamanho médio e da frequência de adipócitos, em intervalos de 500 µm² [33], utilizando-se um mínimo de 750 adipócitos por animal. Para verificação de hiperplasia, o número de adipócitos foi calculado a partir da modificação de protocolo previamente publicado [34], aplicando-se a equação original à cada intervalo de frequência considerado, multiplicado seu volume médio pelo percentual correspondente. Assumiu-se ρ do tecido igual a 0,916 g/cm³ [35].

Composição Tecidual

Para quantificação de glicose, glicogênio, colesterol total e triglicerídeo do parênquima hepático, um método foi derivado a partir de diversos protocolos de otimização [36–38]. Cerca de 20-30 mg de amostra crio congelada foi pesada, adicionada ao tubo A, homogeneizada em 20 vezes seu volume de clorofórmio:metanol (2:1 v/v) e mantida em banho de gelo durante 10 min. Este foi então centrifugado a 10000 rpm por 3 min e o sobrenadante transferido para um tubo B. Ao tubo B, foram adicionados 5 volumes de solução 0,05M NaCl e agitado em vórtex por 30 s, o sobrenadante foi transferido para um tubo C. O pellet do tubo A foi lavado com 5 volumes de etanol 67% gelado, centrifugado, e o sobrenadante adicionado ao tubo C. O conteúdo restante do tubo B foi evaporado, suspenso em 10 volumes de etanol. Ao pellet do tubo A foi então adicionado 10x volumes de NaOH 20% em dH₂O e aquecido a 100°C por 20 minutos com frequente agitação. Após aquecimento, o conteúdo do tubo A foi resfriado, adicionado 5 volumes de solução saturada de NaSO₄ e 30 volumes de etanol absoluto e centrifugado a 12000g por 10 minutos. O sobrenadante do tubo A foi descartado e o precipitado suspenso em 30 volumes de dH₂O.

O conteúdo do tubo A foi utilizado para determinação de glicogênio, segundo método fenol-ácido sulfúrico. As concentrações de triglicerídeo e colesterol total foram determinadas a partir do conteúdo do tubo B, e da glicose, a partir do tubo C, utilizando kits comerciais (Vida Biotecnologia, Brasil).

Parâmetros Oxidativos

Para a avaliação do balanço oxidativo sistêmico, foram determinados no soro a quantidade da enzima superóxido dismutase (SOD) [39]; a atividade da enzima catalase (CAT) [40]; as concentrações de glutatona (GSH), glutatona total (GT) e glutatona dissulfeto (GSSG) [41]; os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) [42], poder antioxidante redutor de ferro (FRAP) [43] e níveis totais de espécies reativas de oxigênio (TOX) por técnica de FOX-1 [44], com modificação da concentração para 25nM de H₂SO₄, pH 1,8 e se utilizando de sulfato de ferro amoniacal e com adição de 0,1 M de D-Sorbitol.

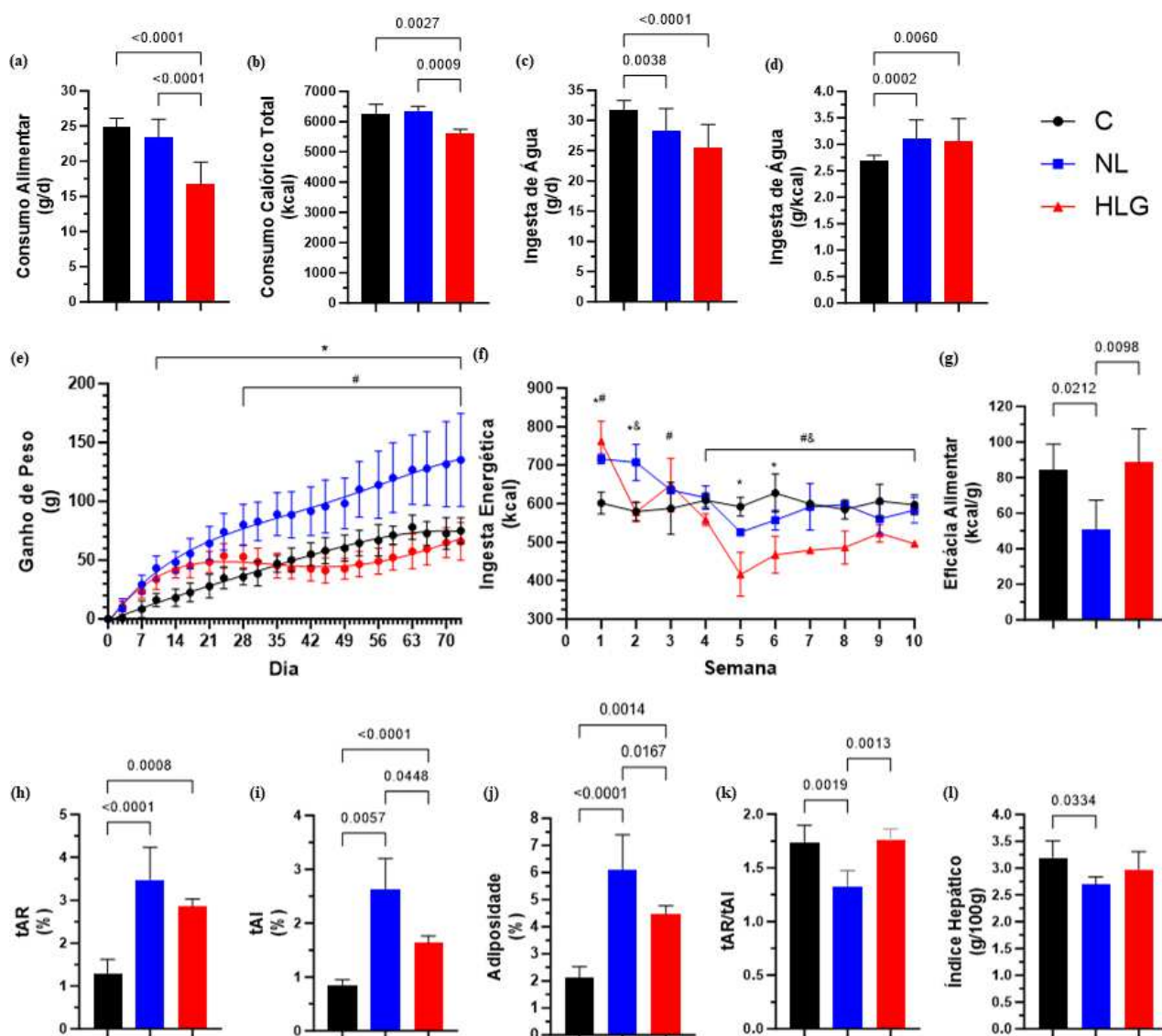
Análise Estatística

A parametricidade dos dados foi avaliada por teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade por teste de Brown-Forsythe. Os dados não paramétricos foram avaliados com teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn. Os dados paramétricos, quando a homogeneidade foi atendida, foram expressos como média ± desvio padrão e avaliados por ANOVA de uma via, com pós teste de Tukey, ou aplicada a correção de Welch com pós teste de Dunnett, quando os dados se apresentaram de forma heterogênea. Os resultados de ganho de peso dos animais, GTT, ITT, e frequência de adipócitos de foram avaliados com ANOVA de duas vias com pós teste de Tukey. Para a identificação de correlações, foi utilizado teste de Pearson de duas caudas [45] e os resultados estão apresentados em Material Online 2. Em todos os testes, assumiu-se significância $p < 0,05$. Os gráficos foram produzidos no Prism (v10.0 GraphPad, Dotmatics).

RESULTADOS

Os animais HLG consumiram menos ração que os demais grupos, resultando em uma menor ingesta calórica (Figura 1a-b). Tanto os animais NL quanto HLG ingeriram menos água durante o período experimental total, entretanto o consumo de água por kcal consumida foi elevado nestes dois grupos (Figura 1c-d). Ambas as dietas semipurificadas resultaram em maior consumo de vitamina E, 68% e 53% em NL e HLG, respectivamente, essa diferença se deu pela maior concentração de α -tocoferol adicionado às rações, em conformidade com os índices recomendados pela NRC-95. Os animais HLG apresentaram rápido ganho de peso inicial até a terceira semana, seguido por uma estabilização com concomitante redução da ingesta energética. NL apresentou ganho de peso acima do esperado, com inicial consumo energético elevado e posterior normalização, resultando em uma melhora da eficácia alimentar em relação aos demais grupos (Figura 1e-g). Apenas os animais NL apresentaram obesidade ao final do experimento, porém, tanto em NL quanto em HLG houve aumento dos tecidos adiposos subcutâneo (tAI) e visceral (tAR), com aumento de adiposidade total (Figura 1h-j). NL apresentou deposição de adiposidade preferencialmente subcutânea e redução do índice hepático (1k-l).

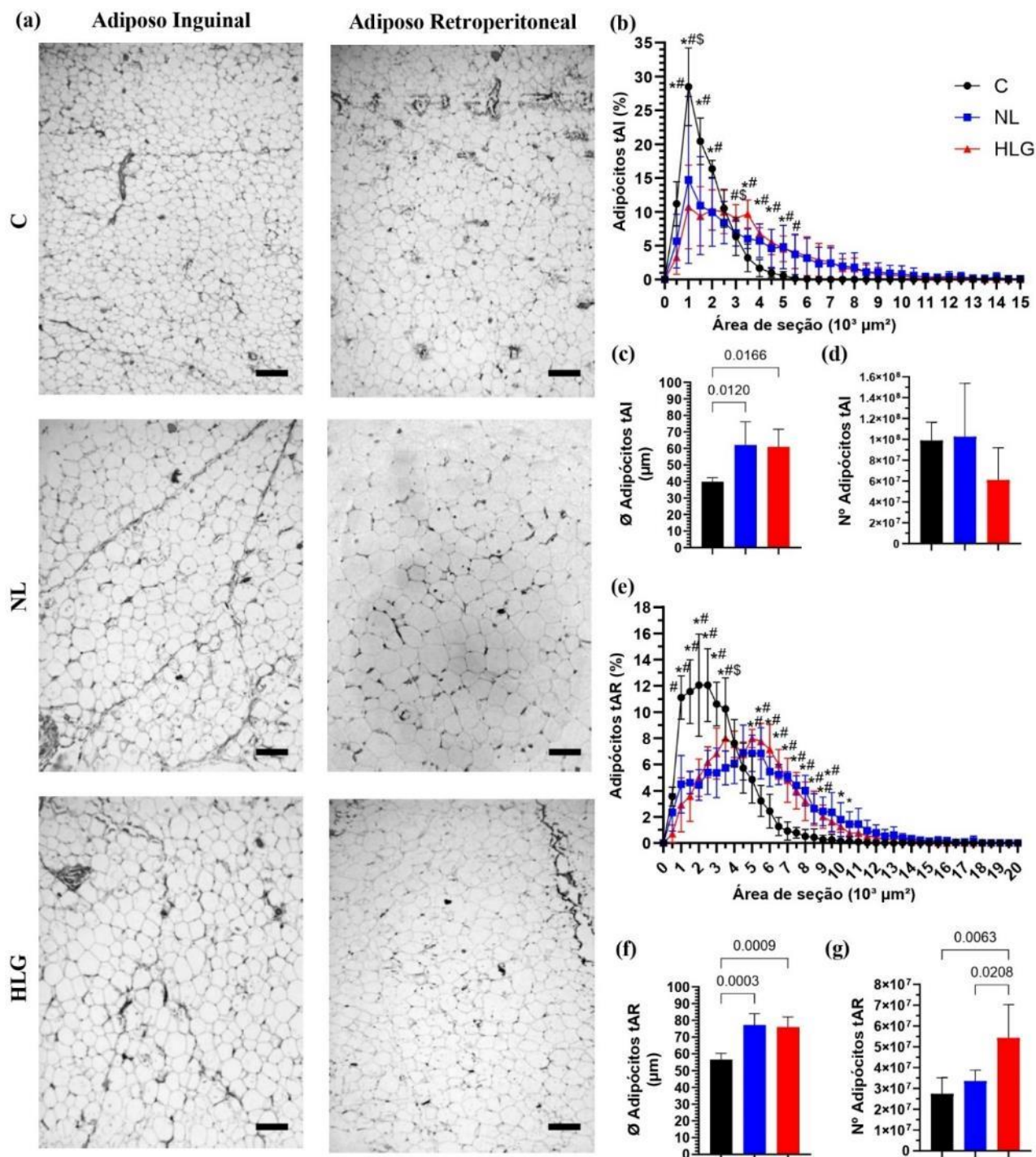
Fig. 1



Consumo diário alimentar (a), consumo calórico total (b), ingestão diário de água (c), ingestão de água por kcal consumida (d), ganho de peso acumulado (e), ingestão calórica semanal (f), eficácia alimentar (g), tecido adiposo retroperitoneal (tAR) (h), tecido adiposo inguinal (tAI) (i), adiposidade total (j) relação entre tAR/tAI (k), índice hepático (l); C = controle, NL = dieta normocalórica/lipídica, HLG = dieta hipercalórica/lipídica/glicêmica. (a,b,c,d,g,h,i,j,k,l) ANOVA de uma via com pós teste de Tukey, (e,f) ANOVA medidas repetidas com pós teste de Tukey, * $p < 0,05$ entre C e NL, # $p < 0,05$ entre C e HLG, & $p < 0,05$ entre NL e HLG

Em NL, o aumento dos tAI e tAR foi decorrente de processo hipertrofico, com aumento respectivo de 56% e 37% no diâmetro médio dos adipócitos. Os animais HLG apresentaram hipertrofia similar a NL e concomitante ocorrência de hiperplasia do tAR, evidenciada pelo aumento de 98% no número de adipócitos e dois picos distintos de frequência de tamanho, um com $3500 \mu\text{m}^2$ e outro com $5000 \mu\text{m}^2$ (Figura 2).

Fig. 2

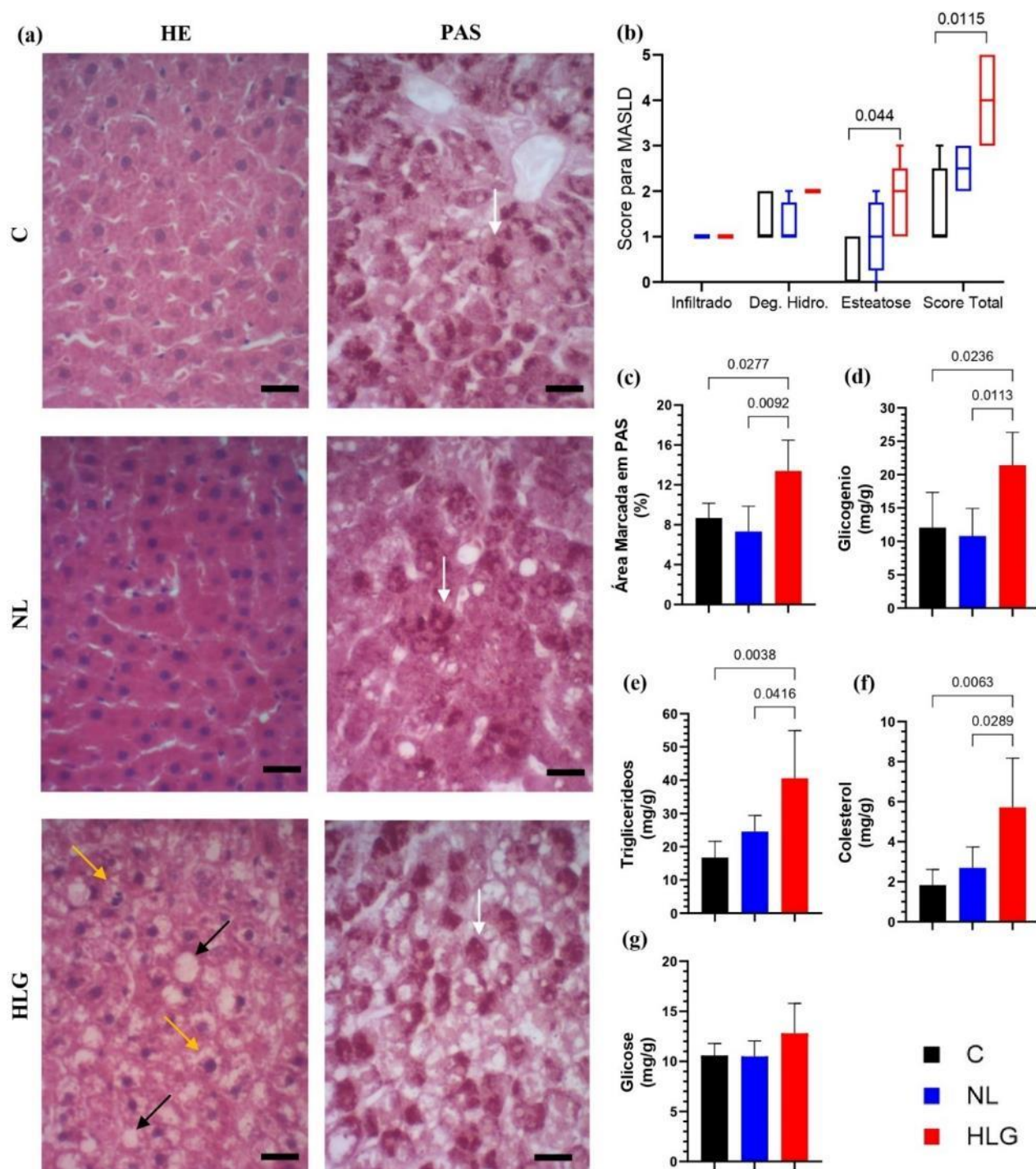


Fotomicrografia do tecido do adipócito inguinal (tAI) e retroperitoneal (tAR) (a), frequência de adipócitos do tAI por área de secção (b) diâmetro médio dos adipócitos de tAI (c), número total de adipócitos do tAI (d) frequência de adipócitos do tAR por área de secção (e), diâmetro médio dos adipócitos de tAR (f), número total de adipócitos do tAR (g). Barra = 200 μm . C = Controle, NL = ração semipurificada normocalórica/lipídica, HLG = ração semipurificada hiper-calórica/lipídica/glicêmica. (c,d,f,g) ANOVA de uma via com pós teste de Tukey, (b,e) ANOVA de duas vias pós teste de Tukey.

Os animais NL não apresentaram aumento dos estoques hepáticos de triglicérides ou glicogênio, tanto nas análises histológicas quanto nas análises bioquímicas. Os animais HLG demonstraram aumento de 142% de

triglicerídeos, 212% de colesterol e 78% de glicogênio hepático, com diagnóstico histopatológico de MASLD (Figura 3).

Fig. 3

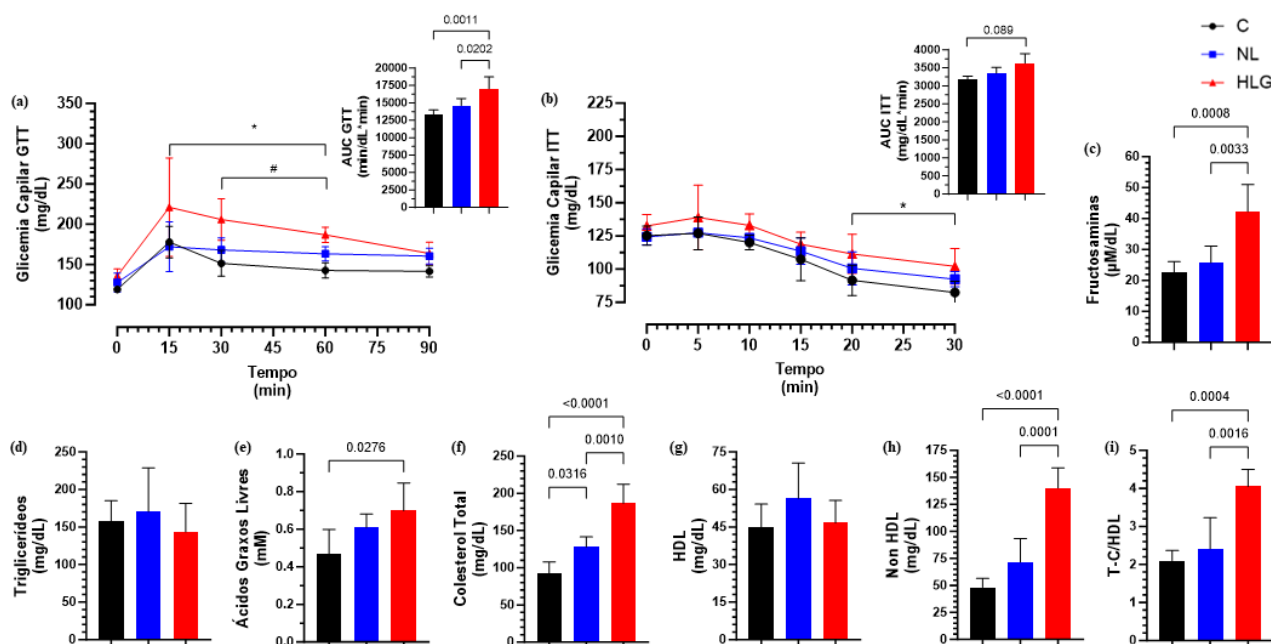


Fotomicrografia em hematoxilina e eosina e ácido periódico de Schiff (PAS) do fígado (a), Score para Doença Hepática Esteatótica Associada a Disfunção Metabólica (b), percentual de área demarcada por reação com PAS para demonstração de depósitos de glicogênio (c), glicogênio hepático (d), triglicerídeos hepático (e), colesterol total hepático (f), glicose hepática (g). Barra = 25 μm, seta diagonal preta indicando esteatose, seta diagonal amarela indicando degeneração hidrópica, seta vertical branca indicando granulo de glicogênio. C = Controle, NL = ração semipurificada normocalórica/lipídica, HLG = ração semipurificada hipercalórica/lipídica/glicêmica. (b) Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn, (c, d, e, f, g) ANOVA de uma via com pós teste de Tukey.

As alterações morfométricas verificadas em NL e HLG pressupunham a ocorrência de alterações

metabólicas glicolípídicas. Porém, somente os animais HLG apresentaram intolerância à glicose, resistência à insulina e elevada glicação proteica, indicando descontrole glicêmico continuado (Figura 4a-c). Embora não tenha apresentado alteração nos valores de triglicerídeos, o grupo HLG demonstrou elevação de 49% de AGL e acentuada hipercolesterolemia, com aumento de 100% do colesterol total e 190% da fração não HDL. Os animais NL apresentaram discreto aumento do colesterol total, devido à simultânea elevação da fração HDL e não HDL (Figura 4d-i).

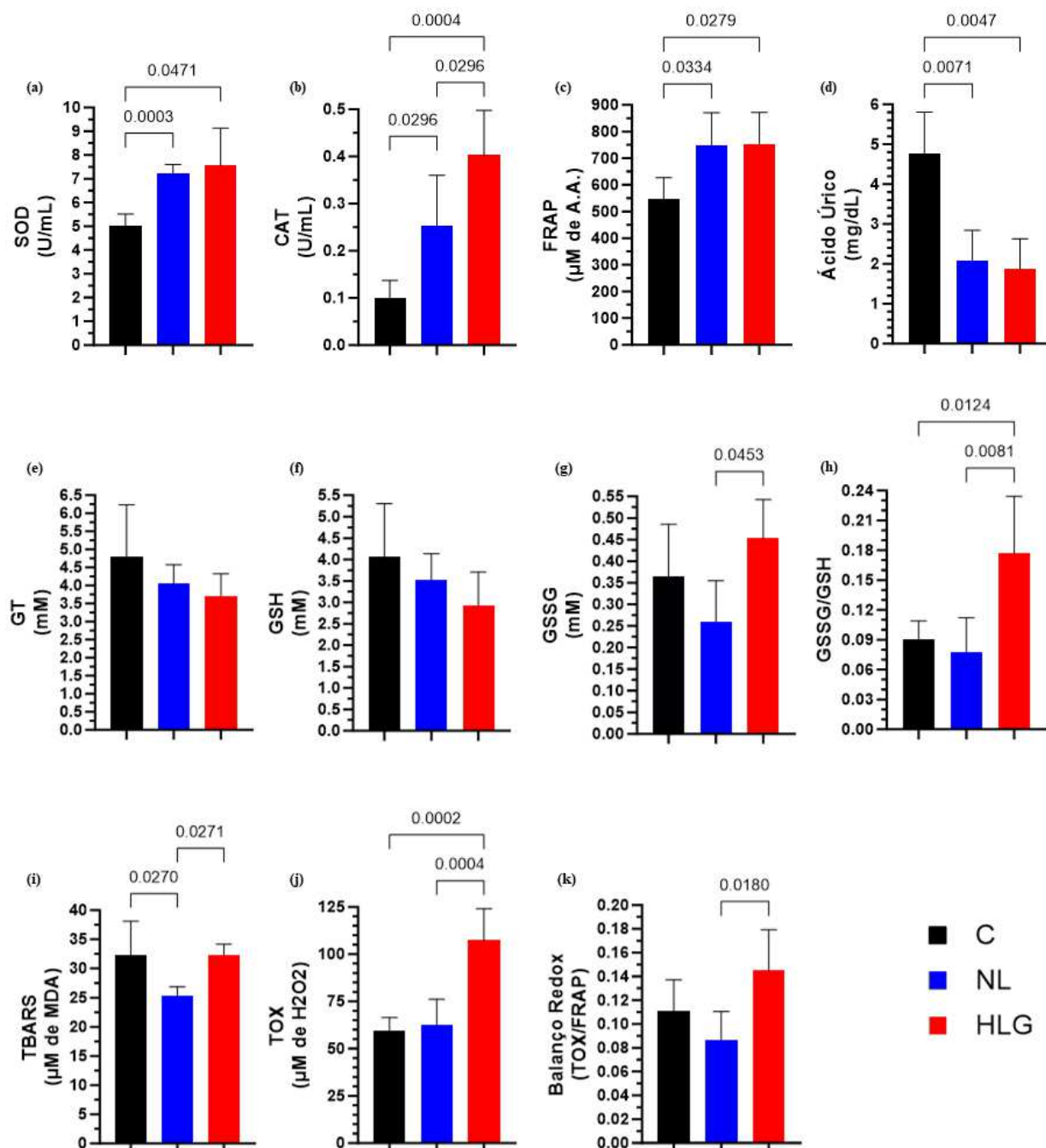
Fig. 4



Teste de tolerância a glicose intraperitoneal (a), teste de tolerância à insulina (b), fructosamina sérica (c), triglicerídeos séricos (d), ácidos graxos livres séricos (e), colesterol total sérico (f), lipoproteínas de alta densidade (HDL) séricas (g), lipoproteínas de não alta densidade (Non HDL) séricas (h), relação colesterol total por HDL (i); C = controle, NL = dieta normocalórica/lipídica, HLG = dieta hipercalórica/lipídica/glicêmica. (c, d, e, f, g, h, i) ANOVA de uma via com pós teste de Tukey, (a, b) ANOVA medidas repetidas com pós teste de Tukey, * $p < 0,05$ entre C vs HLG, # $p < 0,05$ entre C vs NL.

A avaliação dos parâmetros oxidativos sistêmicos demonstraram aumento nas defesas antioxidantes em NL e HLG (Figura 5). As concentrações de SOD aumentaram de modo semelhante em NL e HLG. Houve aumento das concentrações de CAT em ambos os grupos experimentais, com acentuada elevação em HLG. As defesas antioxidantes não enzimáticas demonstradas por FRAP apresentaram um aumento de 37% em ambos os grupos experimentais, mesmo com redução das concentrações séricas de ácido úrico. Os níveis de glutatona total e glutatona reduzida não apresentaram redução em NL e HLG, enquanto as concentrações de glutatona bissulfito se elevaram em HLG em relação a NL, indicando aumento da demanda oxidativa. O aumento oxidativo é corroborado pela elevação de 96% e 127% na proporção de glutatona bissulfito/glutatona nos animais HLG em comparação a C e NL, respectivamente. A lipoperoxidação diminuiu em NL, demonstrando redução dos processos oxidativos. Os níveis totais de espécies reativas de oxigênio (ROS) foram maiores em HLG, com aumento de 76% da demanda oxidativa, em comparação aos demais grupos e um balanço redox prejudicado.

Fig 5.



Concentração de superóxido dismutase (SOD) (a), atividade de catalase (CAT) (b), poder antioxidante redutor de ferro (FRAP) equivalente em μM de ácido ascórbico (c), concentração de ácido úrico (d) glutatona total (GT) (e), glutatona reduzida (GSH) (f), glutatona dissulfeto (GSSG) (g), razão entre glutatona dissulfeto e glutatona reduzida (GSSG/GSH) (h), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em μM de malonaldeído (i), espécies reativas de oxigênio totais (TOX) medidas por FOX-1 (j), balanço oxidativo dado pela razão de TOX/FRAP (k) medidos em soro. C = controle, NL = dieta normocalórica/lipídica, HLG = dieta hipercalórica/lipídica/glicêmica. ANOVA de uma via com pós teste de Tukey.

DISCUSSÃO

Historicamente, o principal critério de avaliação no estudo de alterações antropométricas e suas consequências para saúde tem sido o acúmulo de peso, em especial a obesidade, caracterizada pelo IMC. Entretanto, o conceito de obesidade tem sido revisto, sendo proposta a denominação de Doença Crônica Baseada em Adiposidade

(DCBA), uma classificação mais ampla, que transfere a contribuição do peso para o acúmulo de tecido adiposo [1, 46]. Este trabalho apresenta evidências complementares ao modelo patológico da DCBA, em especial de subcategorias clínicas da doença, demonstrando que o fígado e a nutrição podem ser tão determinantes quanto a adiposidade no desenvolvimento das alterações metabólicas. Além disso, fornecemos novos dados para melhor formulação e padronização de modelos dietéticos animais no estudo da doença.

Modelos dietéticos tradicionais para indução de obesidade em animais utilizam-se de uma alimentação com alta quantidade de gordura para rápido ganho de peso e promoção de hiperfagia [14]. Embora nossos resultados contrariem esta hipótese, a redução da ingesta alimentar e a ausência da obesidade em animais alimentados com altas quantidades de gordura já foram descritas [23]. A promoção de obesidade e o aumento da adiposidade em animais alimentados com dieta rica em carboidrato também foi um achado inesperado, contrastando com outros trabalhos [14, 47], o que pode ser explicado pela maior energia metabolizável proveniente de alimentos purificados/processados [16] e aumento da digestibilidade de lipídios e carboidratos [18, 48].

A associação da resposta hiperplásica apenas do tecido adiposo visceral com a resistência à insulina não foi condizente com o esperado. A adipogênese visceral é tida como um marcador de adequada expansão tecidual, fornecendo proteção contra distúrbios metabólicos glicolipídicos [49]. Entretanto, a utilização de uma fonte de gordura alimentar rica em ácido oleico e palmítico pode ter sido um dos fatores determinantes das características morfofisiológicas encontradas. Esse tipo de lipídio já demonstrou forte potencial promotor de adipogênese [50], através da estimulação de um dos reguladores mestres do metabolismo energético, o Receptor Ativado por Proliferação de Peroxissomo Gama (PPAR- γ) [51, 52]. Esta estimulação por si, na verdade, proporcionaria proteção contra distúrbios metabólicos, com sensibilização à insulina [53]. Entretanto, a associação com o alto consumo de colesterol, capaz de promover hipertrofia e inflamação do tecido adiposo visceral [54], pode ter atuado sinergicamente para promoção do efeito paradoxal relatado.

As alterações hepáticas foram outro fator associado às respostas metabólicas e morfológicas encontradas em animais alimentados com dieta rica em gordura. O alto consumo de frutose e gordura pode promover acúmulo excessivo de glicogênio hepático, por estimulação da glicogênese e redução da oxidação glicídica [55, 56]. Os mesmos ácidos graxos capazes de promover a estimulação do PPAR- γ em tecido adiposo, exercem efeito similar em tecidos insulino-dependentes, como fígado e músculos [52, 57], promovendo acúmulo de triglicerídeos e agravamento de insultos. O alto consumo de colesterol também é um fator de contribuição para lesão hepática, resultando em alteração metabólica e desenvolvimento de resistência à insulina [58]. O dano gerado pelo acúmulo hepático de colesterol pode ser tanto proveniente da ingesta deste, como pela ingesta de alta quantidade de frutose, um potente estimulador da *de novo* lipogênese hepática [55], que promove acúmulo de colesterol hepático a partir da redução de síntese e excreção de ácidos biliares [59]. Além de explicar as alterações hepáticas, a redução da excreção biliar é um potencial mecanismo promotor da perda de eficiência alimentar observada neste trabalho, em uma dieta de alta gordura, devido à redução da digestibilidade de lipídios.

O consumo de altas quantidades de açúcares e gorduras, mesmo não promovendo a obesidade, foi condizente com o desenvolvimento de resistência à insulina e dislipidemia [60], representativo de um quadro de Distúrbio Metabólico sem Obesidade [61]. Entretanto, somente a obesidade não foi suficiente para promover alterações glicolipídicas, demonstrando um estado condizente com o quadro clínico de Obesidade Metabolicamente Saudável (OMS) [62], sendo o padrão de deposição de tecido adiposo nestes animais um possível mecanismo de proteção contra o distúrbio metabólico glicolipídico da obesidade [63]. Como em humanos, o destino metabólico da OMS é o desenvolvimento de síndrome metabólica [64], futuras investigações com períodos experimentais mais prolongados

permitirão melhor caracterizar este modelo.

O excesso de ROS, denominado estresse oxidativo, é o mais recente e menos elucidado mecanismo patológico proposto para promoção da DCBA e de suas comorbidades [9], com ainda menos dados sobre os subgrupos clínicos apresentados [65]. Nós buscamos então caracterizar o estado oxidativo sistêmico dos animais para melhor elucidar seus mecanismos e associações com as alterações morfofisiológicas. O estado oxidativo é caracterizado por um complexo balanço entre a demanda oxidativa, promovida pela formação de ROS no sistema e sua remoção através de diversos mecanismos. Todos os constituintes do sistema antioxidante podem ter suas concentrações alteradas na DCBA e são diretamente relacionados ao desenvolvimento de suas alterações metabólicas [66–68]. Alguns elementos nutricionais são capazes de promover a modificação dos níveis antioxidantes, como o próprio consumo de vitamina E, que além da elevação da fração não enzimática, é capaz de promover o aumento das concentrações de SOD e CAT [69], além de reduzir os níveis de ácido úrico, por promover sua excreção [70]. Lipídios são capazes de promover o aumento da expressão das enzimas SOD e CAT. O colesterol, por exemplo, aumenta a síntese da isoforma mitocondrial de SOD [71], enquanto a ingestão de gordura é capaz de elevar seletivamente as concentrações de CAT [72]. Alterações morfométricas, como o aumento da adiposidade, também são relacionadas a modificação destas defesas, como a elevação de síntese da isoforma extracelular de SOD, possivelmente em uma tentativa de adaptação compensatória [73].

Embora, de forma sistêmica, o aumento de defesas antioxidantes seja benéfico no combate à obesidade e suas complicações [74], sua origem pode ser contraproducente. Enquanto, em tecidos como fígado [75] e músculo [76] este aumento possa promover sensibilidade à insulina, no tecido adiposo a superexpressão de CAT produz efeito nocivo, exacerbando os danos metabólicos e reduzindo a obesidade promovida por uma dieta hiperlipídica [77], similar ao relatado neste estudo. Esse tipo de aumento seletivo de CAT no tecido adiposo, como indicado pelas correlações deste trabalho, é condizente com a hipótese da estimulação do PPAR- γ [78].

A nutrição também está relacionada a produção de ROS, por exemplo, o excesso nutricional de lipídios e açúcares podem levar a sua produção exacerbada pela cadeia transportadora de elétrons mitocondrial ou pela estimulação da enzima NADPH oxidase 4 (NOX4) [9]. O consumo excessivo de açúcares favorece a glicação de proteínas, estimulando a produção de ROS pela formação de produtos finais da glicação avançada [79]. O fígado fornece um meio de comunicação e regulação entre os estímulos nutricionais e o sistêmico, podendo produzir ROS a partir de ambas as vias [80]. As correlações encontradas neste estudo apontam para o papel fundamental da dieta e do fígado na promoção de um estado de estresse oxidativo sistêmico, condizente com a lipotoxicidade por deposição ectópica de gordura e resistência à insulina [9]. Nossos resultados indicam que a contribuição da dieta e do fígado são tão relevantes quanto a adiposidade no desenvolvimento da DCBA e de suas comorbidades.

Em suma, nossos achados se somam a outros indicando uma maior e mais complexa interação entre nutrição, síndrome metabólica e obesidade do que previamente especulado [23, 24]. Propomos que a composição nutricional da dieta e seus efeitos sobre a regulação metabólica e oxidativa do fígado são tão importantes quanto alterações do tecido adiposo para promoção de danos metabólicos e estresse oxidativo associados a DCBA. Além disso, demonstramos que dietas com alta quantidade de carboidratos podem promover obesidade com características metabólicas específicas. Também apresentamos dois novos modelos potenciais para o estudo de subgrupos clínicos pouco explorados, um para Distúrbio Metabólico sem Obesidade, outro para Obesidade Metabolicamente Saudável.

REFERENCIAS

1. Abarca-Gómez L, Abdeen ZA, Hamid ZA, et al (2017) Worldwide trends in body-mass index, underweight,

- overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet* 390:2627–2642
2. Blüher M (2019) Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol* 15:288–298
 3. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, et al (2020) Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019. *J Am Coll Cardiol* 76:2982–3021
 4. Lin X, Li H (2021) Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12:706978
 5. Wang L, Wang H, Zhang B, Popkin BM, Du S (2020) Elevated Fat Intake Increases Body Weight and the Risk of Overweight and Obesity among Chinese Adults: 1991-2015 Trends. *Nutrients* 12:3272
 6. van Dam RM, Seidell JC (2007) Carbohydrate intake and obesity. *Eur J Clin Nutr* 61 Suppl 1:S75-99
 7. Cordain L, Eaton SB, Sebastian A, Mann N, Lindeberg S, Watkins BA, O’Keefe JH, Brand-Miller J (2005) Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 81:341–54
 8. Valicente VM, Peng C-H, Pacheco KN, Lin L, Kielb EI, Dawoodani E, Abdollahi A, Mattes RD (2023) Ultra-processed Foods and Obesity Risk: A Critical Review of Reported Mechanisms. *Adv Nutr* 14:718–738
 9. Ahmed B, Sultana R, Greene MW (2021) Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomed Pharmacother* 137:111315
 10. Bray GA (2023) Beyond BMI. *Nutrients* 15:2254
 11. Hernández Bautista RJ, Mahmoud AM, Königsberg M, López Díaz Guerrero NE (2019) Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomed Pharmacother* 111:503–516
 12. Suleiman JB, Mohamed M, Bakar ABA (2020) A systematic review on different models of inducing obesity in animals: Advantages and limitations. *J Adv Vet Anim Res* 7:103–114
 13. Speakman JR (2019) Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. *Int J Obes (Lond)* 43:1491–1492
 14. Bastías-Pérez M, Serra D, Herrero L (2020) Dietary Options for Rodents in the Study of Obesity. *Nutrients* 12:3234
 15. Cheng HS, Phang SCW, Ton SH, Abdul Kadir K, Tan JBL (2019) Purified ingredient-based high-fat diet is superior to chow-based equivalent in the induction of metabolic syndrome. *J Food Biochem* 43:e12717
 16. Barr SB, Wright JC (2010) Postprandial energy expenditure in whole-food and processed-food meals: implications for daily energy expenditure. *Food Nutr Res* 54:5144
 17. Shahidi F, Pan Y (2022) Influence of food matrix and food processing on the chemical interaction and bioaccessibility of dietary phytochemicals: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 62:6421–6445
 18. Hou X-D, Qin X-Y, Hou J, Tang H, Ge G-B (2022) The potential of natural sources for pancreatic lipase inhibitors: a solution of the obesity crisis? *Expert Opin Drug Discov* 17:1295–1298
 19. DeBenedictis JN, de Kok TM, van Breda SG (2023) Impact of Processing Method and Storage Time on Phytochemical Concentrations in an Antioxidant-Rich Food Mixture. *Antioxidants (Basel)* 12:1252
 20. Kumar V, Singh DD, Lakhawat SS, Yasmeen N, Pandey A, Singla RK (2022) Biogenic Phytochemicals Modulating Obesity: From Molecular Mechanism to Preventive and Therapeutic Approaches. *Evid Based Complement Alternat Med* 2022:6852276

21. Turnbaugh PJ (2017) Microbes and Diet-Induced Obesity: Fast, Cheap, and Out of Control. *Cell Host Microbe* 21:278–281
22. Chehade SB, Green GBH, Graham CD, et al (2022) A modified standard American diet induces physiological parameters associated with metabolic syndrome in C57BL/6J mice. *Front Nutr* 9:929446
23. Monsanto SP, Hintze KJ, Ward RE, Larson DP, Lefevre M, Benninghoff AD (2016) The new total Western diet for rodents does not induce an overweight phenotype or alter parameters of metabolic syndrome in mice. *Nutr Res* 36:1031–1044
24. Zhang L, Li X, Liu X, et al (2022) Purified diet versus whole food diet and the inconsistent results in studies using animal models. *Food Funct* 13:4286–4301
25. de Moura E Dias M, Dos Reis SA, da Conceição LL, Sedyiyama CMN de O, Pereira SS, de Oliveira LL, Gouveia Peluzio M do C, Martinez JA, Milagro FI (2021) Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetol Metab Syndr* 13:32
26. National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition (1995) Nutrient Requirements of Laboratory Animals: Fourth Revised Edition, 1995. <https://doi.org/10.17226/4758>
27. Nery C da S, Pinheiro IL, Muniz G de S, Vasconcelos DAA de, França SP de, Nascimento E do (2011) Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 17:49–55
28. Bowe JE, Franklin ZJ, Hauge-Evans AC, King AJ, Persaud SJ, Jones PM (2014) Metabolic phenotyping guidelines: assessing glucose homeostasis in rodent models. *J Endocrinol* 222:G13-25
29. Konobu K, Takao H (1978) An improved colorimetric micromethod with diphenylcarbazine for serum free fatty acids determination. *Yakugaku Zasshi* 98:226–30
30. McCoy MG, Sun G-S, Marchadier D, Maugeais C, Glick JM, Rader DJ (2002) Characterization of the lipolytic activity of endothelial lipase. *J Lipid Res* 43:921–9
31. Levene AP, Goldin RD (2012) The epidemiology, pathogenesis and histopathology of fatty liver disease. *Histopathology* 61:141–52
32. Du F, Ding Y, Zou J, Li Z, Tian J, She R, Wang D, Wang H, Lv D, Chang L (2015) Morphology and Molecular Mechanisms of Hepatic Injury in Rats under Simulated Weightlessness and the Protective Effects of Resistance Training. *PLoS One* 10:e0127047
33. Parlee SD, Lentz SI, Mori H, MacDougald OA (2014) Quantifying size and number of adipocytes in adipose tissue. *Methods Enzymol* 537:93–122
34. Eriksson-Hogling D, Andersson DP, Bäckdahl J, Hoffstedt J, Rössner S, Thorell A, Arner E, Arner P, Rydén M (2015) Adipose tissue morphology predicts improved insulin sensitivity following moderate or pronounced weight loss. *Int J Obes (Lond)* 39:893–8
35. Ross R, Léger L, Guardo R, De Guise J, Pike BG (1991) Adipose tissue volume measured by magnetic resonance imaging and computerized tomography in rats. *J Appl Physiol* (1985) 70:2164–72
36. Van Handel E (1965) Microseparation of glycogen, sugars, and lipids. *Anal Biochem* 11:266–71
37. Schaubroeck KJ, Leitner BP, Perry RJ (2022) An optimized method for tissue glycogen quantification. *Physiol Rep* 10:e15195
38. Reichl B, Eichelberg N, Freytag M, Gojo J, Peyrl A, Buchberger W (2020) Evaluation and optimization of common lipid extraction methods in cerebrospinal fluid samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1153:122271

39. Zhang C, Bruins ME, Yang Z-Q, Liu S-T, Rao P-F (2016) A new formula to calculate activity of superoxide dismutase in indirect assays. *Anal Biochem* 503:65–7
40. Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105:121–6
41. Rahman I, Kode A, Biswas SK (2006) Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nat Protoc* 1:3159–65
42. Aguilar Diaz De Leon J, Borges CR (2020) Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. *J Vis Exp*. <https://doi.org/10.3791/61122>
43. Benzie IF, Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem* 239:70–6
44. Arab K, Steghens J-P (2004) Plasma lipid hydroperoxides measurement by an automated xylenol orange method. *Anal Biochem* 325:158–63
45. Akoglu H (2018) User’s guide to correlation coefficients. *Turk J Emerg Med* 18:91–93
46. Garvey WT (2022) Is Obesity or Adiposity-Based Chronic Disease Curable: The Set Point Theory, the Environment, and Second-Generation Medications. *Endocr Pract* 28:214–222
47. Hu S, Wang L, Yang D, et al (2018) Dietary Fat, but Not Protein or Carbohydrate, Regulates Energy Intake and Causes Adiposity in Mice. *Cell Metab* 28:415–431.e4
48. Ćorković I, Gašo-Sokač D, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M (2022) Dietary Polyphenols as Natural Inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase. *Life (Basel)*. <https://doi.org/10.3390/life12111692>
49. Smith U, Kahn BB (2016) Adipose tissue regulates insulin sensitivity: role of adipogenesis, de novo lipogenesis and novel lipids. *J Intern Med* 280:465–475
50. Małodobra-Mazur M, Cierznia A, Pawełka D, Kaliszewski K, Rudnicki J, Dobosz T (2020) Metabolic Differences between Subcutaneous and Visceral Adipocytes Differentiated with an Excess of Saturated and Monounsaturated Fatty Acids. *Genes (Basel)* 11:1092
51. Malodobra-Mazur M, Cierznia A, Dobosz T (2019) Oleic acid influences the adipogenesis of 3T3-L1 cells via DNA Methylation and may predispose to obesity and obesity-related disorders. *Lipids Health Dis* 18:230
52. Maruyama H, Kiyono S, Kondo T, Sekimoto T, Yokosuka O (2016) Palmitate-induced Regulation of PPAR γ via PGC1 α : a Mechanism for Lipid Accumulation in the Liver in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Med Sci* 13:169–78
53. Leonardini A, Laviola L, Perrini S, Natalicchio A, Giorgino F (2009) Cross-Talk between PPAR γ and Insulin Signaling and Modulation of Insulin Sensitivity. *PPAR Res* 2009:818945
54. Chung S, Cuffe H, Marshall SM, McDaniel AL, Ha J-H, Kavanagh K, Hong C, Tontonoz P, Temel RE, Parks JS (2014) Dietary cholesterol promotes adipocyte hypertrophy and adipose tissue inflammation in visceral, but not in subcutaneous, fat in monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34:1880–7
55. Hengist A, Koumanov F, Gonzalez JT (2019) Fructose and metabolic health: governed by hepatic glycogen status? *J Physiol* 597:3573–3585
56. Hernández EÁ, Kahl S, Seelig A, et al (2017) Acute dietary fat intake initiates alterations in energy metabolism and insulin resistance. *J Clin Invest* 127:695–708
57. Li XZ, Yan Y, Zhang JF, Sun JF, Sun B, Yan CG, Choi SH, Johnson BJ, Kim JK, Smith SB (2019) Oleic acid in the absence of a PPAR γ agonist increases adipogenic gene expression in bovine muscle satellite cells1. *J Anim Sci* 97:4114–4123

58. Püschel GP, Henkel J (2018) Dietary cholesterol does not break your heart but kills your liver. *Porto Biomed J* 3:e12
59. Berger J-M, Moon Y-A (2021) Increased Hepatic Lipogenesis Elevates Liver Cholesterol Content. *Mol Cells* 44:116–125
60. Gunawan S, Aulia A, Soetikno V (2021) Development of rat metabolic syndrome models: A review. *Vet World* 14:1774–1783
61. Zhou Z, Macpherson J, Gray SR, Gill JMR, Welsh P, Celis-Morales C, Sattar N, Pell JP, Ho FK (2021) Are people with metabolically healthy obesity really healthy? A prospective cohort study of 381,363 UK Biobank participants. *Diabetologia* 64:1963–1972
62. Blüher M (2020) Metabolically Healthy Obesity. *Endocr Rev*. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa004>
63. Goossens GH (2017) The Metabolic Phenotype in Obesity: Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. *Obes Facts* 10:207–215
64. Käräjämäki AJ, Korkiakoski A, Hukkanen J, Kesäniemi YA, Ukkola O (2022) Long-term metabolic fate and mortality in obesity without metabolic syndrome. *Ann Med* 54:1432–1443
65. Jakubiak GK, Osadnik K, Lejawa M, Kasperczyk S, Osadnik T, Pawlas N (2021) Oxidative Stress in Association with Metabolic Health and Obesity in Young Adults. *Oxid Med Cell Longev* 2021:9987352
66. Akl MG, Fawzy E, Deif M, Farouk A, Elshorbagy AK (2017) Perturbed adipose tissue hydrogen peroxide metabolism in centrally obese men: Association with insulin resistance. *PLoS One* 12:e0177268
67. Lewandowski Ł, Kepinska M, Milnerowicz H (2020) Alterations in Concentration/Activity of Superoxide Dismutases in Context of Obesity and Selected Single Nucleotide Polymorphisms in Genes: SOD1, SOD2, SOD3. *Int J Mol Sci* 21:5069
68. Picklo MJ, Long EK, Vomhof-DeKrey EE (2015) Glutathionyl systems and metabolic dysfunction in obesity. *Nutr Rev* 73:858–68
69. Newaz MA, Nawal NN (1998) Effect of alpha-tocopherol on lipid peroxidation and total antioxidant status in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 11:1480–5
70. Seifi B, Kadkhodae M, Zahmatkesh M (2011) Effect of vitamin E therapy on serum uric acid in DOCA-salt-treated rats. *Acta Physiol Hung* 98:214–20
71. Dominko K, Dikic D, Hecimovic S (2020) Enhanced activity of superoxide dismutase is a common response to dietary and genetically induced increased cholesterol levels. *Nutr Neurosci* 23:398–410
72. Rindler PM, Plafker SM, Szweda LI, Kinter M (2013) High dietary fat selectively increases catalase expression within cardiac mitochondria. *J Biol Chem* 288:1979–90
73. Nakao C, Ookawara T, Sato Y, Kizaki T, Imazeki N, Matsubara O, Haga S, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H (2000) Extracellular superoxide dismutase in tissues from obese (ob/ob) mice. *Free Radic Res* 33:229–41
74. Amos DL, Robinson T, Massie MB, Cook C, Hoffsted A, Crain C, Santanam N (2017) Catalase overexpression modulates metabolic parameters in a new “stress-less” leptin-deficient mouse model. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1863:2293–2306
75. Iwakami S, Misu H, Takeda T, Sugimori M, Matsugo S, Kaneko S, Takamura T (2011) Concentration-dependent dual effects of hydrogen peroxide on insulin signal transduction in H4IIEC hepatocytes. *PLoS One* 6:e27401
76. Barbosa MR, Sampaio IH, Teodoro BG, et al (2013) Hydrogen peroxide production regulates the mitochondrial function in insulin resistant muscle cells: effect of catalase overexpression. *Biochim Biophys Acta* 1832:1591–604

77. Croft AJ, Kelly C, Chen D, Haw TJ, Sverdlov AL, Ngo DTM (2023) Overexpression of Mitochondrial Catalase within Adipose Tissue Does Not Confer Systemic Metabolic Protection against Diet-Induced Obesity. *Antioxidants (Basel)* 12:1137
78. Okuno Y, Matsuda M, Kobayashi H, Morita K, Suzuki E, Fukuhara A, Komuro R, Shimabukuro M, Shimomura I (2008) Adipose expression of catalase is regulated via a novel remote PPARgamma-responsive region. *Biochem Biophys Res Commun* 366:698–704
79. Arivazhagan L, López-Diez R, Shekhtman A, Ramasamy R, Schmidt AM (2022) Glycation and a Spark of ALEs (Advanced Lipoxidation End Products) - Igniting RAGE/Diaphanous-1 and Cardiometabolic Disease. *Front Cardiovasc Med* 9:937071
80. Lee J, Kim J, Lee R, et al (2022) Therapeutic strategies for liver diseases based on redox control systems. *Biomed Pharmacother* 156:113764

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer ao Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina pelo fornecimento dos animais, ao Biotério do Laboratório de Toxicologia da Reprodução por permitir a alocação e manutenção dos animais durante o período de experimentação e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

APROVAÇÃO ÉTICA

O estudo foi conduzido segundo critérios do Guia para Cuidado e Uso de Animais de Laboratório e aprovado pela Comissão de Ética do Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil (Ofício N° 074/2022; Protocolo N° 032.2022).

Material online 1

Composição nutricional das diferentes rações utilizadas

	C	NL	HLG
Energia (kcal/kg)	3437	3704	4633
Net Carboidratos (g/kg)	476	599	367
Fibra (g/kg)	76	73	87
Açúcar Adicionado (g/kg)	0	0	117,4
Lipídeos (g/kg)	44	56	252
Colesterol (mg/kg)	0	380	652
Proteína (g/kg)	219	154	192

Ambas as rações experimentais, NL e HLG, foram formuladas atendendo as recomendações nutricionais da “National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. Nutrient Requirements of Laboratory Animals: Fourth Revised Edition, 1995.” para animais em fase de crescimento.

Formulação de rações experimentais

	NL (g)	HLG (g)
Proteína Isolada de Soja	100	100
Glúten de Trigo	25	25
Ovo integral em pó	25	25
Amido de Milho	474	-
Milho Degermado	100	100
Maltodextrina	100	100
Sucrose	-	100
Farelo de Trigo	50	50
Psyllium	25	25
Farinha de Coco	100	100
Castanha do Pará	5	5
Banha de Porco	-	155
Levedura	25	25
Aditivo Vitamínico Mineral	40	40
Total	1069	850

As rações foram prepadadas atendendo as recomendações da “National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. Nutrient Requirements of Laboratory Animals: Fourth Revised Edition, 1995.” e secadas em estufa a 60°C por 72h.

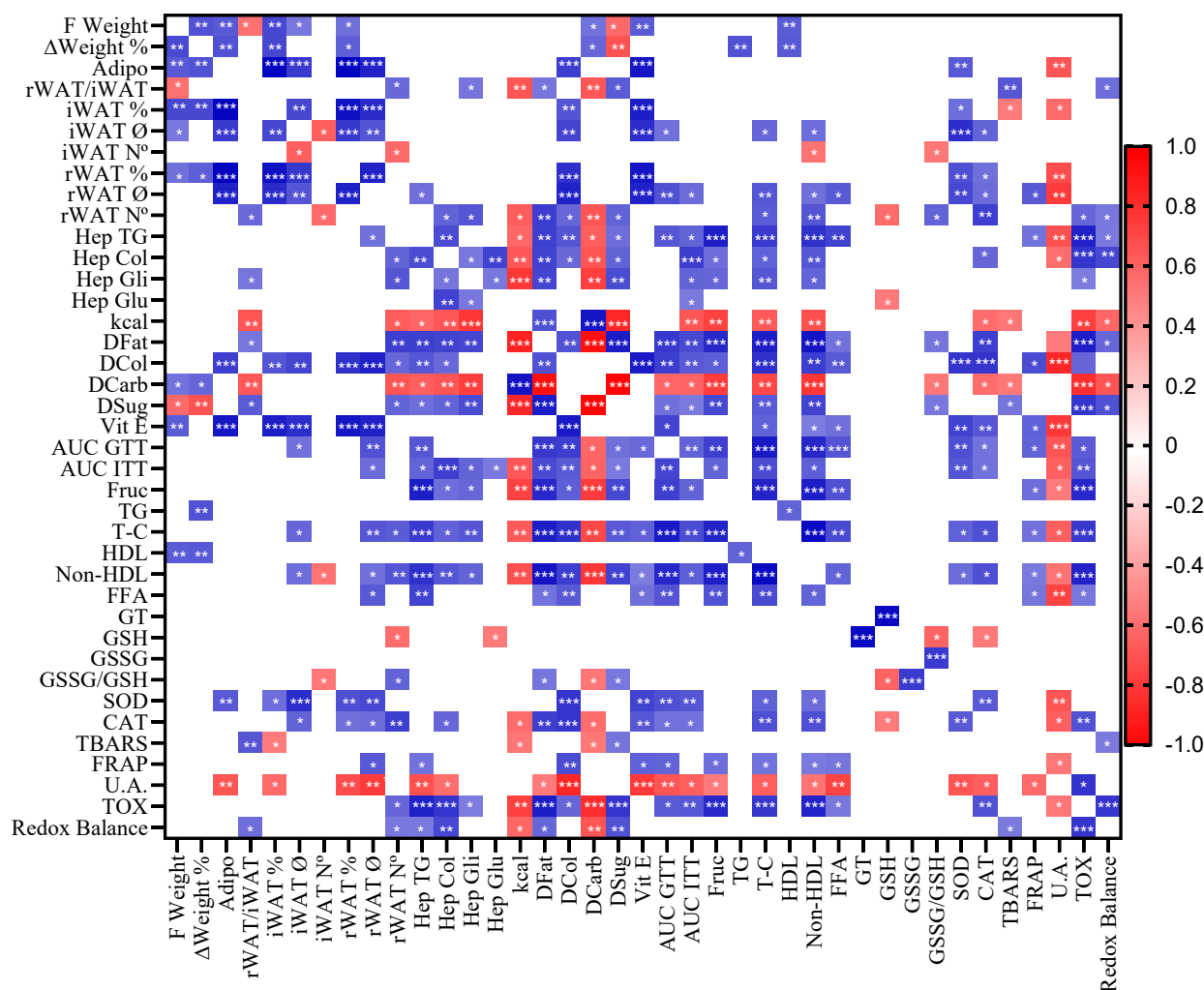
Aditivo Vitamínico Mineral

Vitamina B1 (mg)	11
Vitamina B2 (mg)	3
Vitamina B3 (mg)	20
Vitamina B5 (mg)	10
Vitamina B6 (mg)	6
Vitamina B12 (mcg)	40
Biotina (mcg)	200
Ácido Fólico (mcg)	200
Vitamina A (mcg)	3000
Vitamina D (mcg)	55
Vitamina E (mg)	43
Vitamina K3 (mg)	2
Ca (mg)	3700
P (mg)	570
Na (mg)	420
K (mg)	1020
F (mg)	5,7
Mg (mg)	230
Zn (mg)	50
Fe (mg)	50
I (mg)	1,44
Mn (mg)	50

Co (mcg)	100
Se (mcg)	2000
S (mg)	840
Metionina (g)	5,2
Colina (mg)	100
Dextrose (g)	1

Valores referentes aos 40g do aditivo. Composição: Carbonato de Cálcio, carbonato de magnésio, fosfato bicálcico, iodato de potássio, cloreto de potássio, cloreto de sódio, sulfato de cobalto, sulfato de cobre, sulfato de ferro, sulfato de manganês, sulfato de magnésio, sulfato de zinco, oxido de zinco, selenito de sódio, enxofre ventilado, tiamina HCl, riboflavina, ácido nicotínico, pantotenato de cálcio, piridoxina HCl, cianocobalamina, biotina, ácido fólico, vitamina A acetato, vitamina D3, vitamina E acetato, bissulfato sódico de menadiona, cloreto de colina, DL-metionina.

Material Online 2



F Weight = Peso Final; Δ Weight % = Variação de peso em porcentagem do peso basal; Adipo = Adiposidade; rWAT/iWAT = Razão de tecido adiposo retroperitoneal por tecido adiposo inguinal; iWAT% = Porcentagem relativa do tecido adiposo inguinal; iWATØ = Diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo inguinal; iWAT N° = Número de adipócitos no tecido adiposo inguinal; rWAT% = Porcentagem relativa do tecido adiposo retroperitoneal; rWATØ = Diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal; rWAT N° = Numero de adipócitos no tecido adiposo retroperitoneal; Hep TG = Triglicerídeos Hepáticos; Hep Col = Colesterol Hepático; Hep Gli = Glicogênio Hepático; Hep Glu = Glucose Hepática; kcal = Consumo calórico total; DFat = Gordura dietética; DCol = Colesterol dietético; DCarb = Carboidratos dietéticos; DSug = Açúcares Dietéticos; Vit E = α -tocoferol dietético; AUC GTT = Área sobre a curva no teste de tolerância à glicose; AUC ITT = Área sobre a curva no teste de tolerância à insulina; Fruc = Frutosaminas séricas; TG = Triglicerídeos séricos; T-C = Colesterol total sérico; HDL = Colesterol de alta densidade sérico; Non-HDL = Colesterol de não alta densidade sérico; FFA = Ácidos Graxos Livres séricos; GT = Glutaciona total sérica; GSH = Glutaciona sérica; GSSG = Glutaciona bissulfito sérica; GSSG/GSH = Razão entre glutaciona bissulfito e glutaciona; SOD = Superóxido dismutase sérica; CAT = Catalase sérica; TBARS = Lipoperoxidação segundo tecido de substancias reativas ao ácido tiobarbitúrico; FRAP = Antioxidantes não enzimáticos segundo método de poder antioxidante redutor de ferro; U.A. = Ácido úrico sérico; TOX = Espécies reativas de oxigênio totais séricas segundo método de FOX-1; Redox Balance = Razão entre FRAP e TOX. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

ANEXOS

Anexo 1: Parecer CEUA



Universidade
Estadual de Londrina

 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 074/2022

Londrina, 08 de setembro de 2022.

Prezado (a) professor (a),

Certificamos que o projeto intitulado: “EFEITOS DO CILOSTAZOL NOS PARÂMETROS MORFOFISIOLÓGICOS DE RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA”, protocolo CEUA nº 032.2022 sob a responsabilidade de **Fábio Goulart de Andrade** que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL) em reunião do dia **08/09/2022**.

Este projeto tem por objetivo avaliar os efeitos do tratamento com cilostazol em ratos Wistar durante a indução de obesidade por alimentação hiperlipídica. **Grau de invasidade: GI2.**

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa científica
Vigência da autorização	26/09/22 a 26/09/25
Espécie/ linhagem/ raça	Rato heterogênico/Wistar
Nº de animais	55
Peso/ Idade	90 dias/250 a 300g
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina – UEL.
Amostras a serem coletadas	Sangue, testículos e epidídimos, próstata, ductos deferentes, fígado, glândulas adrenais, rins, aorta, coração, músculo sóleo, músculo gastrocnêmio, osso fêmur, tecido adiposo subcutâneo, tecido adiposo marrom, tecido adiposo perivascular

Cumpra orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Em cumprimento às exigências do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), em até 30 dias da finalização do projeto de pesquisa ou extensão envolvendo o uso de animais (verificar período de vigência expresso neste ofício), é necessário encaminhar relatório da descrição de uso de animais para ceua@uel.br, conforme modelo disponível no site da CEUA: <http://www.uel.br/comites/ceua/pages/relatorio-de-projetos.php>.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Sem mais para o momento, subscrevo-me, cordialmente.

Profª Drª Patricia Chimin Perandini
Coordenadora da CEUA/UEL

Ilmo.(a) Sr.(a. Fábio Goulart de Andrade
Prof. (a) Dr (a). Responsável pelo projeto
C/C para a Chefia de Departamento de Histologia/CCB
C/C para a Direção do Centro de Ciências Biológicas/CCB