KARLA MELO FERREIRA DA SILVA

OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA EM DIFERENTES TEMPOS: EFEITOS SOBRE ANÁLISES MURINOMÉTRICAS, HEMATOLÓGICAS E IMUNOLÓGICAS DE RATAS

RECIFE

2014

Karla Melo Ferreira da Silva

Obesidade induzida por dieta em diferentes tempos: efeitos sobre análises murinométricas, hematológicas e imunológicas de ratas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Nutrição.

Orientadora: Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Recife
2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S586o Silva, Karla Melo Ferreira da.
Obesidade induzida por dieta em diferentes tempos: efeitos sobre análises murinométricas, hematológicas e imunológicas de ratas / Karla Melo Ferreira da Silva.– Recife: O autor, 2014.
87 f. : il. ; tab. ; 30 cm.

Orientadora: Célia Maria Machado Barbosa de Castro.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2014.
Inclui referências e anexos.

1. Obesidade. 2. Gorduras na dieta. 3. Sistema imunológico. 4. Células sanguíneas. 5. Ratos Wistar I. Castro, Célia Maria Machado Barbosa de (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2014-159)

Karla Melo Ferreira da Silva

Obesidade induzida por dieta em diferentes tempos: efeitos sobre análises murinométricas, hematológicas e imunológicas de ratas

Tese aprovada em 27 de fevereiro de 2014.

Profª. Drª. Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Drª. Thayza C. Montenegro Stamford
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Drª. Flávia Regina Gonçalves de Araújo
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Drª. Juliana Félix de Melo
Centro Universitário Maurício de Nassau

_____

Profª. Drª. Celia Maria Machado Barbosa de Castro
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Recife
2014

Aos meus pais, **Maria de Lourdes Melo da Silva e Carlos José Ferreira da Silva**, pelo exemplo de força de vontade, caráter e amor.

Ao meu esposo, **Taciano Lopes**, pelo companheirismo, paciência e presença em todos os momentos.

A vocês dedico todas as conquistas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À professora Célia Maria Machado Barbosa de Castro, por fazer parte de minha formação desde a iniciação científica, com muito profissionalismo aliado a paciência, carinho e amizade.

À Universidade Federal de Pernambuco, pelas oportunidades oferecidas desde a graduação.

Aos funcionários e professores do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, pelo apoio durante todo andamento do curso.

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (Facepe), pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

Ao Laboratório de Imunopatologia Keiso Asami (LIKA), pela estrutura física e demais recursos disponibilizados para realização da pesquisa.

A Dr. Edeones França, veterinário que teve participação impar na obtenção e cuidado com os animais utilizados neste trabalho.

A Sr. José Paulino (*in memorian*), pela disponibilidade e proatividade em ajudar na confecção da dieta, aprendi muito com a experiência deste senhor.

Agradeço a Rosangela Rosendo, Solange Porto e Bruno Sampaio, por toda ajuda e companhia em todas as etapas de realização deste trabalho, além da amizade, troca de experiências e conselhos.

À Vanessa Oliveira, por realizar muito bem seu trabalho, sempre disponível e realizando papel bem superior ao de estagiária, sua participação foi fundamental.

A Bruno Galvão, amigo de todas as horas, pelas palavras de conforto, força e participação direta em todas as etapas de minha formação.

Às amigas Alexandra Melo e Tatianne Ribeiro por toda ajuda nos laboratórios, sempre altruísta. Sei que o que fizeram por mim, apenas amigas fazem.

À Aline Oliveira e Raquel Jacques, pelo companheirismo, amizade e força. Sem o apoio de vocês, não teria conseguido.

Sou intensamente grata à minha família e amigos pessoais, sem eles não teria sentido seguir em frente.

A Taciano por estar sempre ao meu lado durante estes quatro anos de trabalho, levantando minha cabeça quando tinha decepções e sempre com um sorriso no rosto para acompanhar minhas alegrias.

Tenho a consciência de que para conseguir realizar este trabalho, tive a ajuda de várias outras pessoas. Toda a dificuldade desta trajetória torna estas pessoas inesquecíveis, mesmo que não tenham sido aqui citadas.

A todos que participaram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre.”

Paulo Freire

Resumo

A obesidade é uma epidemia mundial com alta prevalência e patologias associadas. Nas mulheres têm sido encontrados os mais altos índices, além da possível influência da estrutura corporal e dos hormônios nas comorbidades. O excesso de tecido adiposo está relacionado a vários distúrbios da saúde, como a imunodeficiência e alteração nas células sanguíneas. A promoção de obesidade em roedores a partir de dietas hiperlipídicas almeja reproduzir o comportamento nutricional humano. Este tem sido considerado o modelo de indução da obesidade que mais se assemelha a realidade em humanos. O objetivo do estudo foi analisar em ratas o modelo de indução de obesidade através de consumo de dieta hipercalórica e hiperlipídica por diferentes períodos e seu efeito em parâmetros antropométricos, imunológicos e hematológicos. 64 ratas da linhagem *Wistar* recém desmamadas foram divididas nos grupos: controle (dieta padrão) e obeso (dieta hiperlipídica). Cada dieta foi consumida por quatro, oito, doze e dezesseis semanas. Foram avaliados: consumo alimentar e calórico; peso corporal; antropometria; gordura abdominal; análises bioquímicas; taxa de fagocitose; contagem de células do lavado broncoalvolar e hemograma. Os obesos consumiram menos alimento, mas o consumo energético manteve-se maior que os controles. A obesidade imposta em todos os períodos de consumo aumentou o peso corporal, gordura abdominal, triglicerídeos e glicose. A avaliação antropométrica mais relacionada à obesidade foi a circunferência abdominal. O grupo obeso apresentou mais leucócitos totais alveolares, com menor percentual de macrófagos e menor taxa de fagocitose. A obesidade alterou a quantidade de hemácias em todos os tempos estudados. As plaquetas só foram afetadas com oito semanas de dieta hiperlipídica e a quantidade dos leucócitos totais do sangue não foi alterada pela obesidade. Diante dos resultados, conclui-se que a dieta hipercalórica e hiperlipídica consumida entre quatro e dezesseis semanas é útil em induzir obesidade em ratas fêmeas *Wistar*. A escolha do tempo de consumo da dieta deve depender do objetivo do estudo, pois as análises bioquímicas são dependentes desse tempo. Nem todas as análises murinométricas são fidedignas à obesidade imposta por dieta, destaca-se a circunferência abdominal como medida mais relacionada. A obesidade prejudica a função imune e altera o perfil das células hematológicas de ratas, mas o grau destas alteração também é dependente do tempo de consumo da dieta obesogênica.

Palavras-chaves: Obesidade. Gorduras na dieta. Sistema imunológico. Células sanguíneas. Ratos Wistar.

Abstract

Obesity is a worldwide syndrome with high prevalence and associated diseases. In women have been found the highest rates, beyond the possible influence of body structure and hormones in comorbidities. Excess adipose tissue is related to several health disorders such as immunodeficiency and changes in blood cells. The promotion of obesity in rodents from high fat diet aims to reproduce the human nutritional behavior. This has been considered the model for the induction of obesity that most resembles reality in humans. The aim of the study was to analyze the model to induce obesity in rats through consumption of high calorie and high fat diet for different periods and their effect on anthropometric, immunological and hematological parameters. 64 female *Wistar* rats newly weaned were divided into two groups: control (standard diet) and obese (fat diet). Each diet was consumed for four, eight, twelve and sixteen weeks. Were evaluated: food and caloric intake, body weight, anthropometry, abdominal fat, biochemistry, rate of phagocytosis, leukocytes count of broncoalvolar washed and count of blood cell. Obese consumed less food, but energy consumption has remained higher than the controls. Obesity imposed on all consumption periods increased body weight, abdominal fat, triglycerides and glucose. The anthropometric analyze that more related the obesity was waist circumference. The obese group had more alveolar leukocytes, with a lower percentage of macrophages and lower rate of phagocytosis. Obesity altered red cells at all time points. Platelets were affected only eight weeks of high fat diet and the amount of total blood leukocytes was not altered by obesity. Given the results, it is concluded that the high calorie and high fat diet consumed four to sixteen weeks is useful in inducing obesity in female *Wistar* rats. The choice of the time consumption of the diet should depend on the purpose of the study, since the biochemical analyzes are dependent on this time. Not all analyzes are reliable murinométricas obesity imposed by diet, highlights the waist circumference as a measure most related. Obesity impairs immune function and alters the profile of hematological cells of rats, but the degree of these changes is also time dependent consumption obesogênica diet.

Keywords: Obesity. Dietary fats. Immune system. Blood cells. Rats W*istar*.

Lista de ilustrações

Figura 1- Fluxograma de divisão dos grupos..... 37

Figura 2 - Ingredientes para o preparo da dieta hipercalórica e hiperlipídica..... 38

Figura 3 - Coleta de sangue..... 41

Figura 4 - Equipamento para realização do hemograma..... 41

Figura 5 - Cirurgia de traqueostomia e obtenção do lavado broncoalveolar..... 42

Figura 6 - Amostra do lavado broncoalveolar diluída em azul de *trypan* e Contagem total de leucócitos em câmara de Neubauer..... 43

Figura 7 - Centrífuga para citocentrifugado do lavado broncoalveolar..... 43

Figura 8 - Obtenção da cultura de macrófagos alveolares..... 44

Figura 9 - Preparo do fungo e da câmara úmida para a taxa de fagocitose..... 45

Lista de ilustrações – Artigo 1

Figura 1 - Média ± desvio padrão do peso corporal de ratas Wistar submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014.. 54

Figura 2 - Média ± desvio padrão da gordura bdominal de ratas Wistar submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014.. 54

Lista de ilustrações – Artigo 2

Figura 1 - Média ± desvio padrão da quantidade de leucócitos do sangue periférico de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014……... 67

Figura 2 - Média ± desvio padrão da quantidade de plaquetas do sangue periférico de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014……... 68

Figura 3 - Média ± desvio padrão da quantidade de leucócitos do lavado broncoalveolar de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014……. 69

Figura 4 - **.** Média ± desvio padrão do percentual de macrófagos do LBA de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014..... 69

Figura 5 - Média ± desvio padrão da taxa de fagocitose de macrófagos do lavado broncoalveolar de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014… 70

Lista de tabelas

Tabela 1 - Composição das dietas controle e hipercalórica 39

Lista de tabelas - Artigo 1

Tabela 1 - Composição das dietas consumidas por ratas *Wistar* durante o período experimental. Recife (PE), 2014..... 51

Tabela 2 - Média ± desvio padrão do consumo alimentar e energético de ratas Wistar submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014…….. 53

Tabela 5 - Média ± desvio padrão da murinometria de ratas *Wistar* submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014…….…….. 55

Tabela 4 - **.** Média ± desvio padrão da análise bioquímica de ratas *Wistar* submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014…..……. 55

Lista de tabelas - Artigo 2

Tabela 1 - Média ± desvio padrão da série vermelha do sangue periférico de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014……..**.....** 68

Lista de abreviaturas e siglas

CC	Circunferência da Cintura
CCL2	Quimiocina ligante 2
CT	Colesterol total
DCNTs	Doenças crônicas não transmissíveis
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
IBGE	Instituto brasileiro de geografia e estatística
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NK	*Natural killer*
OMS	Organização mundial da saúde
POF	Pesquisas de orçamentos familiares
RCQ	Relação Cintura-Quadril
SUS	Sistema Único de Saúde
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
Vigitel	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

Sumário

1.	**APRESENTAÇÃO**	**15**
	Hipóteses	17
	Objetivos	17
2.	**REVISÃO DA LITERATURA**	**18**
2.1	A epidemia da obesidade	18
2.2	Gênese da obesidade e patologias associadas	21
2.3	Tecido adiposo como órgão endócrino	25
2.4	Relação entre adipocinas, sistema imunológico e células sanguíneas	26
2.5	Avaliação do estado nutricional	30
2.6	Estudos da obesidade em modelos animais	32
3	**MÉTODOS**	**36**
3.1	Desenho do Estudo	36
3.2	Amostra	36
3.3	Divisão dos Grupos experimentais	37
3.4	Dieta hipercalórica e hiperlipídica	37
3.5	Avaliação do peso corporal e da gordura abdominal	39
3.6	Avaliação do consumo alimentar e consumo energético	39
3.7	Acompanhamento de parâmetros antropométricos	40
3.8	Análise de parâmetros bioquímicos	40
3.9	Avaliação dos parâmetros hematológicos	41
3.10	Estudo dos parâmetros imunológicos	42
3.11	Análise estatística	45
4	**RESULTADOS**	**46**
	Artigo I: Obesidade induzida por dieta hiperlipídica e hipercalórica consumida por diferentes períodos de tempo sobre parâmetros antropométricos e bioquímicos de ratas	47
	Artigo II: Efeito da obesidade em diferentes períodos de consumo de dieta hipercalórica: quantidade e função de macrófagos alveolares e perfil das células sanguíneas	62
5.	**CONSIDERAÇÕES FINAIS**	**76**
	REFERÊNCIAS	**77**
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	85
	ANEXO B – Documentação de encaminhamento do artigo I ao periódico.	86
	ANEXO C – Documentação de encaminhamento do artigo II ao periódico	87

1. APRESENTAÇÃO

Segundo a Organização mundial de saúde (OMS), a obesidade vem crescendo em todo mundo a níveis alarmantes. Pesquisa recente desta organização anunciou que a obesidade é causa de quase três milhões de mortes por ano, sendo o continente americano, a região de maior incidência da doença. Outro dado preocupante é o fato de, em todas as regiões pesquisadas, a obesidade ser mais comum em mulheres (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2012). No Brasil, o declínio da desnutrição e o aumento acelerado de casos de sobrepeso e obesidade revelam a transição nutricional vivenciada no último século. É a primeira vez que mais da metade da população brasileira está acima do peso, sendo mais vulneráveis os menos favorecidos e o sexo feminino (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Para as mulheres, destacam-se enquanto fatores contributivos a alta paridade, a incorporação no mercado de trabalho e o menor esforço dispensado no trabalho doméstico, condição favorecida pela disponibilidade de eletrodomésticos modernos. A distribuição segundo o sexo mostra que as mulheres concorrem com as mais altas prevalências de obesidade e que existe um gradiente segundo a escolaridade indicando maior ocorrência entre os indivíduos com baixo nível de escolaridade (CASTANHEIRA *et al.*, 2003).

Sobrepeso e obesidade podem ser resumidamente definidos como acúmulo de gordura no organismo relacionado a riscos para a saúde, caracterizando-se como uma das doenças não transmissíveis que mais cresce em todo o mundo. Os altos índices levaram à comunidade científica a pesquisar as possíveis causas para a obesidade, desde então, sabe-se que tem etiologia multifatorial. Dentre as principais hipóteses encontram-se alterações genéticas, estresse e consumo crônico de alimentos hipercalóricos. Os alimentos ricos em gordura, associados a um menor gasto energéticos, têm sido aceitos como o principal fator causal (WANDERLEY; FERREIRA, 2010).

O balanço energético positivo leva ao armazenamento de gordura no tecido adiposo. Este, por sua vez, deixou de ser considerado um órgão com função estritamente de reservatório, hoje é considerado o maior órgão endócrino do organismo, ao produzir diversos hormônios e moléculas bioativas. O excesso de tecido adiposo, além de levar à

já conhecida dislipidemia, está relacionado a várias comorbidades causadas pela ação das adipocinas, moléculas de sinalização secretadas pelo adipócito (CAO *et al.*, 2010).

Desta forma, a obesidade é descrita como importante fator de risco para uma série de doenças, incluindo diabetes, doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer como mama, cólon e endométrio, perturbações músculo-esqueléticas, também afeta o sistema imunológico e a formação das células sanguíneas (FERN´ANDEZ-RIEJOS, 2010). Além do grau do excesso de gordura, a sua distribuição regional no corpo interfere nos riscos associados ao excesso de peso, sabe-se que o excesso de gordura abdominal representa maior risco (VASQUES *et al.*, 2010).

As medidas corporais são uma forma de avaliar o excesso de gordura, sobretudo aquelas mais relacionadas com o tecido adiposo abdominal (VASQUES *et al.*, 2010). O estudo dos mecanismos pelos quais a obesidade induz as disfunções fisiológicas pode ser facilitado com a utilização de modelo animal em ambiente de pesquisa. A administração de dieta hipercalórica tem sido considerada o modelo mais simples para indução da obesidade e um dos que mais se assemelha à realidade da obesidade em seres humanos (ROSINI; DA SILVA; MORAES, 2012).

Hipóteses

- O consumo de dieta hipercalórica e hiperlipídica é útil em induzir obesidade em ratas Wistar, que pode ser demonstrada por aumento das medidas murinométricas, quantidade de gordura e análises bioquímicas.
- O excesso de tecido adiposo altera o perfil das células sanguíneas.
- A obesidade prejudica o sistema imunológico, demonstrado por quantidade e função de macrófagos.

Objetivos

Geral

Analisar os efeitos da obesidade, induzida por consumo de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica em diferentes períodos de tempo, sobre parâmetros murinométricos, hematológicos e imunológicos de ratas.

Específicos

- Verificar em ratas o consumo alimentar e calórico da dieta hipercalórica e hiperlipídica;
- Observar a repercussão da dieta hipercalórica e hiperlipídica sobre o peso corporal, gordura abdominal e medidas murinométricas de ratas;
- Analisar o hemograma de ratas obesas;
- Avaliar a quantidade de leucócitos totais alveolares e a taxa de fagocitose de macrófagos de ratas obesas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A seguir serão desenvolvidos tópicos que abordem temas relacionados à pesquisa, de forma a esclarecer o objetivo do estudo.

2.1 A epidemia da obesidade

Os casos de obesidade vêm crescendo em todo o mundo. Divulgado em 2012, o relatório "Estatísticas Mundiais de Saúde", da Organização Mundial de Saúde (OMS) afirma que a obesidade é a causa de morte de 2,8 milhões de pessoas por ano. O relatório de 2012 mostra que, atualmente, 12% da população mundial é considerada obesa; no continente americano, 26% dos adultos são obesos, sendo a região com maior incidência do problema. Baseado em dados de 194 países, o departamento de estatísticas da OMS afirma que em todas as regiões do mundo a obesidade (índice de massa corporal igual ou superior a 30 kg/m^2) duplicou entre 1980 e 2008. Ano em que 10% dos homens e 14% das mulheres em todo o mundo eram obesos, em comparação com 5% dos homens e 8% das mulheres 1980. Estima-se que em 2008 a obesidade afetava mais de um bilhão de homens e mulheres com mais de 20 anos, e em todas as regiões da pesquisa, foi mais comum em mulheres do que em homens. As maiores taxas de prevalência de sobrepeso e obesidade foram relatadas nas Américas (Excesso de peso: 62% em ambos os sexos; obesidade: 26%) e no extremo oposto está a região do Sudeste da Ásia (com excesso de peso: 14% em ambos os sexos; obesidade: 3%) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2012).

Em função da magnitude da obesidade e da velocidade da sua evolução em vários países do mundo, este agravo tem sido definido como uma pandemia, atingindo tanto países desenvolvidos como em desenvolvimento. No Brasil, o excesso de peso e a obesidade aumentaram, segundo a última pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel), publicada em 2012, é a primeira vez que mais da metade da população brasileira está acima do peso. Este estudo realizado pelo Ministério da saúde é um levantamento bianual através de contato telefônico, considerando indivíduos com mais de 18 anos de idade. Foram entrevistados

54 mil adultos em todas as capitais do país e no Distrito Federal entre janeiro e dezembro de 2011. De acordo com a pesquisa, a proporção de pessoas acima do peso no Brasil passou de 42,7% em 2006 para 48,5% em 2011, enquanto o percentual de obesos subiu de 11,4% para 15,8% no mesmo período. O aumento da obesidade e do excesso de peso atinge tanto a população masculina quanto a feminina. Em 2006, 47,2% dos homens e 38,5% das mulheres estavam acima do peso, enquanto em 2011 as proporções passaram para 52,6% e 44,7%, respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Dados da Vigitel (2012) indicam que o excesso de peso na população brasileira também está ligado a fatores como idade. O envelhecimento tem forte influência nos indicativos, sobretudo femininos. O estudo aponta que 25,4% das mulheres entre 18 e 24 anos está acima do peso. A proporção aumenta para 39,9% entre mulheres de 25 a 34 anos e chega a 55,9% dos 45 aos 54 anos. Em relação à obesidade, 6,3% dos homens de 18 a 24 anos se encaixam nessa categoria, contra 17,2% dos homens de 25 a 34 anos. Entre as mulheres, 6,9% das que têm de 18 a 24 anos são obesas. O índice quase dobra entre mulheres de 25 a 34 anos (12,4%) e quase triplica entre 35 e 44 anos (17,1%). Após os 45 anos, a frequência da obesidade se mantém estável, atingindo cerca de um quarto da população feminina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Uma avaliação antropométrica e do estado nutricional da população brasileira é realizada como um dos itens das Pesquisas de orçamentos familiares (POF) que são realizadas pelo Instituto brasileiro de geografia e estatística (IBGE) em parceria com o Ministério da Saúde. A obtenção dos dados é feita por amostragem a partir de visitas domiciliares e são incluídos indivíduos de todas as idades em todos os estados brasileiros, moradores das zonas rural e urbana. Na POF 2008-2009 foram analisados os dados de mais de 188 mil pessoas em 55.970 domicílios. A POF 2008-2009 também mostra um aumento contínuo de excesso de peso e obesidade na população com mais de 20 anos de idade ao longo de 35 anos. O excesso de peso quase triplicou entre homens, de 18,5% em 1974-75 para 50,1% em 2008-09. Nas mulheres, o aumento foi de 28,7% para 48%. Já a obesidade cresceu mais de quatro vezes entre os homens, de 2,8% para 12,4% (1/4 dos casos de excesso) e mais de duas vezes entre as mulheres, de 8% para 16,9% (1/3 dos casos de excesso). Nesse panorama, destaca-se a Região Sul (56,8% de homens, 51,6% de mulheres com sobrepeso), que apresenta os maiores percentuais de obesidade, com predomínio de mulheres obesas: 15,9% de homens e 19,6% de mulheres (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

Estudo realizado no Estado de Pernambuco revelou que a prevalência de obesidade abdominal nos adultos do Estado foi de 51,9%, sendo maior no sexo feminino. (PINHO *et al.,* 2013). No Brasil, os dados provenientes de inquéritos nacionais revelam a evolução da obesidade global na população adulta brasileira e seu impacto nos segmentos menos favorecidos. Neste contexto, observa-se a vulnerabilidade do grupo feminino à dinâmica da obesidade na pobreza (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2004; FERREIRA; MAGALHÃES, 2005). O problema do excesso de peso em mulheres tende a se deslocar para a região nordeste e, de modo geral, para as classes de menor renda. A baixa escolaridade, menores oportunidades de conquistar postos de trabalho de maior qualificação e melhor condição salarial são fatores relevantes neste processo, encontrados em vários estudos. Estes fatores dificultam a adesão das mulheres aos principais instrumentos de prevenção e combate à obesidade (FERREIRA *et al.,* 2010). Pinho e colaboradores identificaram comportamento semelhante em relação ao sexo feminino, na análise bruta, foi verificada maior prevalência da obesidade abdominal a partir da terceira década de vida, na menor faixa de escolaridade, porém, não foi observada associação com a renda. (PINHO *et al.,* 2013). Em estudo, Heslehurst *et al*. (2010), também concordam que a prevalência de obesidade materna tem aumentado ao longo do tempo e está associado positivamente com paridade, grupo étnico negro, idade e desemprego. Muitas mulheres atribuem sua obesidade a grandes ganhos de peso adquiridos durante a gravidez, os quais não conseguiram perder (STOTLAND *et al.,* 2006; POOBALAN *et al.,* 2009).

Nas últimas décadas, o excesso de peso atingiu cerca de 1/3 da população adulta brasileira e apresenta uma tendência crescente, havendo prevalência maior de obesidade entre as mulheres, inclusive nos idosos, e em ambos os gêneros, seu auge ocorre na meia idade, entre os 50 e 65 anos. Entre os idosos, algumas doenças potencializadas pela obesidade assumem importância maior, pois apresentam frequências aumentadas (MARQUES *et al.,* 2005; CAVALCANTI *et al.,* 2010). Por outro lado, o déficit de peso segue em declínio, regredindo de 8% em 1974-75 para 1,8% entre os homens e de 11,8% para 3,6% entre as mulheres, em todos os estratos de renda. (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). O panorama da evolução nutricional da população brasileira revela, nas duas últimas décadas, mudanças em seu padrão. As tendências temporais da desnutrição e da obesidade definem uma das características marcantes do processo de transição nutricional do país. Ao mesmo tempo

em que declina a ocorrência da desnutrição em crianças e adultos em ritmo bem acelerado, aumenta a prevalência de sobrepeso e obesidade. No entanto, estes agravos continuam a co-existir, ainda que a desnutrição atinja grupos populacionais mais delimitados, representando situação de extrema gravidade social, pois expõe os indivíduos a maior risco de adoecer e morrer (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003; COUTINHO; GENTIL; TORAL, 2008).

As transformações sociais e econômicas pelas quais o Brasil vem passando desde o último século têm causado mudanças relevantes no perfil morbimortalidade da população. As doenças infecciosas e parasitárias, principais causas de morte no início do século passado, cederam lugar às doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) (CASADO; VIANA; THULER, 2009). O Sistema Único de Saúde (SUS) gasta, anualmente, R$ 488 milhões com o tratamento de doenças relacionadas à obesidade, revela pesquisa feita pela Universidade de Brasília (2013)**.** De acordo com o trabalho, baseado em custos de 2011, a maior parte dos recursos é destinada para o atendimento hospitalar. Se até meados do século passado 50% das mortes eram provocadas por doenças infecciosas, hoje elas causam apenas 5% dos óbitos. Já as doenças crônicas — causadas principalmente pelo estilo de vida inadequado — foram responsáveis por 49% dos 35 milhões de falecimentos de 2005, segundo a OMS. A previsão é de que, em 2030, as doenças crônicas respondam por 70% do total de mortes. O plano da OMS, que inclui várias medidas, destaca a necessidade das empresas de alimentos e bebidas de reduzir os níveis de sal e açúcar adicionados aos produtos, assim como de substituir as gorduras saturadas por gorduras insaturadas, além da redução das porções. Também pede às autoridades nacionais um controle maior da publicidade de comidas e bebidas prejudiciais à saúde dirigida às crianças, com o objetivo de reduzir a obesidade dos menores (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O Brasil ainda enfrenta diversos problemas de carência nutricional concomitantemente ao aumento de distúrbios da alimentação como a obesidade, sendo que estes problemas trazem graves conseqüências para a saúde da população em geral. Desta forma, pressupõe-se que as ações de alimentação e nutrição constituem estratégias indispensáveis em toda iniciativa que tenha por finalidade promover a saúde da população, melhorando a sua qualidade de vida (COUTINHO; GENTIL; TORAL, 2008).

2.2 Gênese da obesidade e patologias associadas

Segundo a OMS, nos últimos anos houve um aumento global do consumo de alimentos altamente calóricos e ricos em gordura, sal e açúcar, mas pobres em vitaminas, minerais e outros micronutrientes. Ao mesmo tempo, ocorreu uma queda na atividade física por causa do aumento de atividades laborais de natureza sedentária, mudança nos meios de transporte e aumento da urbanização. Enquanto os alimentos ricos em açúcar e gordura, mas pobres em nutrientes, que só eram oferecidos às crianças em ocasiões especiais, passaram a fazer parte da rotina alimentar, andar a pé ou brincar na rua deixaram de ser hábitos tão frequentes, substituídos por televisão, *videogame*, computador e andar de carro. A ansiedade e estresse, para os quais a forma de escape muitas vezes é comer em excesso, tornaram-se mais frequentes entre crianças (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

De acordo com Wanderley e Ferreira (2010), existe na literatura um consenso de que a etiologia da obesidade é bastante complexa, apresentando um caráter multifatorial, envolvendo diversos fatores, incluindo os históricos, ecológicos, políticos, socioeconômicos, psicossociais, biológicos e culturais. Entretanto, percebe-se que, em geral, os fatores mais estudados da obesidade são os biológicos relacionados ao estilo de vida, especialmente no que diz respeito ao binômio dieta e atividade física.

Do ponto de vista epidemiológico, observa-se que a obesidade ocorre principalmente em indivíduos do gênero feminino, de classe social menos favorecida e sua incidência parece aumentar com a idade, especialmente em mulheres, nas quais após a menopausa, se produz um aumento no Índice de Massa Corporal (IMC) e, por conseguinte, um aumento da incidência de sobrepeso e obesidade (BUZZACHERA *et al.*, 2008; FERREIRA *et al.*, 2010). Entre os fatores que contribuem para o aumento do peso corporal verificado entre os mais velhos, com maior prevalência nas mulheres, encontram-se as modificações na composição corporal, pela diminuição da massa magra e da água corporal total e pelo aumento da massa gorda, somadas à redução da atividade física e à prática de hábitos alimentares inadequados na velhice e nas etapas de vida que a antecederam (BUZZACHERA *et al.*, 2008; CAVALCANTI *et al.*, 2010).

A epidemia da obesidade em curso é a criação de um desafio sem precedentes para os sistemas de saúde em todo o mundo, cria-se a polêmica do principal fator determinante para o excesso de gordura. Timothy Frayling (2012) afirma que os fatores genéticos são o principal motor para a obesidade no ambiente de hoje e que a variação

no índice de massa corporal tem um forte componente genético, com efeitos estimados de até 70 %. Estudo atual também mostra que pessoas portadoras de duas cópias de um gene associado à obesidade (o gene FTO) são, em média , mais pesados do que aqueles com duas cópias da versão de proteção. Pesquisa com mais de 200.000 pessoas revelou que a variante do FTO teve um efeito mais forte em pessoas sedentárias do que naqueles que são fisicamente ativos (YANG *et al.*, 2012). Embora as variações de DNA expliquem apenas uma pequena percentagem da variação no índice de massa corporal, eles fornecem uma prova do princípio de que fatores genéticos influenciam os fatores ambientais. Sendo estas evidências confirmadas, os planos com base em mudar o meio ambiente, tais como a proibição da venda de bebidas e alimentos hiper açucarados podem ser mais bem sucedidos do que os planos para aumentar a conscientização através da educação (FRAYLING, 2012).

Contraditoriamente, Wilding (2012) acredita que mudanças ambientais são responsáveis pelo aumento da obesidade. Ele reconhece o papel da genética na regulação do peso corporal, mas argumenta que o rápido aumento da obesidade observado nos últimos 30 anos não pode ser devido a alterações genéticas. Por outro lado, a evidência de que o ambiente mudou é óbvia. Ele aponta para a recente queda no custo de alimentos altamente energéticos, ao lado de promoção de sucesso na indústria de alimentos, e um declínio na atividade física devido a mudanças no transporte, tecnologia e meio ambiente construído como fatores-chave para a epidemia de obesidade. Ainda segundo Wilding, a identificação das causas genéticas será importante para raros casos que podem ser tratados, no entanto, as mudanças no ambiente alimentar e física são essenciais para um impacto significativo sobre a epidemia de obesidade.

Há ainda a relação entre obesidade e o estado de estresse crônico. A exposição de camundongos a um modelo de estresse social aumentou os níveis circulantes de Grelina (peptídeo responsável pela sensação de fome) nesses animais, por mecanismos ainda não esclarecidos. A Grelina interage com o seu receptor (GHSR) localizado nos neurônios catecolaminérgicos do cérebro, levando a uma diminuição no quadro de depressão observado nos animais expostos ao estresse social. Ao mesmo tempo, estes animais apresentaram um quadro de hiperfagia e aumento do peso corpora (CHUANG *et al.*, 2011).

Na ocorrência da obesidade, embora a predominância à predisposição genética seja apontada como um dos fatores envolvidos, existem poucas evidências de que algumas populações sejam mais suscetíveis à obesidade por motivos genéticos, o que

reforça serem os fatores ambientais, em especial a dieta e a atividade física os responsáveis pela diferença na prevalência da obesidade em diferentes grupos populacionais (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2004; OCHOA *et al.*, 2006). Embora os casos de polimorfismos que alteram a produção de hormônios reguladores da ingestão alimentar e do gasto energético estão sendo detectados na população, sabe-se que vários destes polimorfismos estão associados a fatores ambientais como a inatividade física e o excesso no consumo de carboidrato e de gordura saturada, atuando como potencializadores do risco para o desenvolvimento da obesidade (MARTINEZ *at al.*, 2003; MEMISOGLU *et al.*, 2003; ROSINI; DA SILVA; MORAES, 2012).

A obesidade pode ser definida, de forma resumida, como o grau de armazenamento de gordura no organismo associado a riscos para a saúde, devido a sua relação com várias complicações metabólicas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1995). A base da doença é o processo indesejável do balanço energético positivo, resultando em ganho de peso (PINHEIRO; FREITAS; CORSO, 2004). O excesso de peso está claramente associado com o aumento da morbidade e mortalidade e este risco aumenta progressivamente de acordo com o ganho de peso. Da mesma forma que o excesso de massa corporal traz risco, o padrão de distribuição da gordura tem implicações diferenciadas à saúde. Indivíduos com circunferência abdominal aumentada apresentam aumento de tecido adiposo visceral, que confere risco para distúrbios metabólicos, em especial à hipertensão arterial, independentemente do IMC (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1995). Além de favorecer o surgimento de enfermidades potencialmente letais a exemplo de diabetes mellitus, hipertensão, dislipidemias, certos tipos de câncer, sendo relacionada também à ocorrência de eventos cardiovasculares (CAVALCANTI *et al.*, 2009; WANDERLEY, FERREIRA, 2010). A OMS (2012) afirma que sobrepeso e obesidade podem exercer efeitos adversos sobre a pressão arterial e concentração de colesterol e triglicerídeos, além de causar diabetes. Consequentemente, ambos aumentam os riscos para o desenvolvimento de coronariopatias, acidente vascular cerebral e diversos de tipos de câncer. Os dados divulgados alertam, em síntese, para o aumento das doenças não contagiosas ligadas à obesidade: diabetes, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares. Elas representam 2/3 das mortes no mundo.

Os fatores de risco para o desenvolvimento da DCNTs vêm sendo classificados como modificáveis ou não modificáveis. Entre os fatores modificáveis, está a

hipertensão arterial, a ingestão de álcool em grandes quantidades, o diabetes mellitus, o tabagismo, o sedentarismo, o estresse, a obesidade e o colesterol elevado. Já entre os fatores não modificáveis, destaca-se a idade, havendo clara relação entre o envelhecimento e o risco de desenvolver DCNTs. Outros fatores não modificáveis são a hereditariedade, o sexo e a raça. O conhecimento da prevalência dos fatores de risco para DCNTs, principalmente os de natureza comportamental, isto é, os que podem ser modificados, é fundamental por serem sinais de alerta para o crescimento da morbimortalidade relacionada a essas doenças (CASADO; VIANA; THULER, 2009).

2.3 Tecido adiposo como órgão endócrino

Quando a ingestão de energia cronicamente excede o gasto energético, têm-se como resultado ganho de peso e, possível, obesidade. Este excesso de peso é armazenado no tecido adiposo, que consiste em células de gordura, ou adipócitos, com a incrível capacidade de armazenamento de energia excedente na forma de lipídios. (CAO *et al.,* 2008). O tecido adiposo é conhecido por possuir várias funções, entre elas: armazenamento de energia, regulação hormonal dos sistemas homeostáticos, termogênese e proteção de impacto contra as vísceras. É importante considerar que existe uma grande especialização fisiológica e heterogeneidade de células adiposas dependendo da localização do tecido. O órgão adiposo é composto por dois citotipos funcionalmente distintos – o tecido adiposo marrom (TAM) e o tecido adiposo branco (TAB). Em decorrência de estudos recentes com a descoberta da propriedade do TAB de secretar substâncias com importantes efeitos biológicos, grande importância foi atribuída ao seu papel endócrino. Desde então, um novo conceito sobre a função biológica desse tecido vem amadurecendo, consolidando a ideia de ele não ser apenas um mero estoque de energia, um protetor mecânico e/ou um regulador da temperatura corporal, mas sim um órgão dinâmico envolvido em uma variada gama de processos metabólicos e fisiológicos (PRADO *et al.,* 2009). Este tecido não é apenas um depósito de armazenamento passivo, mas também uma glândula endócrina que libera moléculas como a leptina, capaz de regular o apetite e metabolismo do corpo inteiro (CAO *et al.*, 2008).

Na década de 40 a concentração de gordura na região abdominal já era relacionada aos danos decorrentes da obesidade (VAGUE, 1947). Sabe-se que o tecido adiposo não representa apenas o maior reservatório de energia no organismo, mas também um órgão com múltiplas funções e, dependendo dos locais nos quais há deposição de gordura, diferentes respostas biológicas são observadas (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004). Embora as relações de causa e efeito não tenham sido totalmente estabelecidas, as evidências disponíveis indicam que a gordura visceral possui um efeito deletério sobre distintos parâmetros metabólicos e hemodinâmicos, representando um elo importante entre as diversas facetas da síndrome metabólica (BERGMAN *et al.*, 2006; *ROCHA et al., 2013).* A desregulação do metabolismo lipídico tem sido identificada como um contribuinte crítico para a ligação mecânica entre as patologias da síndrome metabólica.

Hoje se sabe que as alterações metabólicas no tecido adiposo estão ligadas ao metabolismo de todo o organismo através de sinais lipídicos. Um forte aumento do tecido adiposo leva a efeitos sistêmicos deletérios. Existe uma rede endócrina mediada por lipídios e o tecido adiposo usa lipocinas para se comunicar com órgãos distantes e, assim, regulam a homeostase metabólica sistêmica. Apesar de crescentes evidências de que o metabolismo lipídico tem papel em doenças metabólicas, os detalhes pelos quais alterações no metabolismo lipídico tecido-específicas estão diretamente integrados na homeostase metabólica sistêmica não são bem compreendidos (CAO *et al.*, 2008). Uma compreensão mais profunda dos processos moleculares envolvidos no desenvolvimento e função destes tipos celulares pode levar a novas terapias para a obesidade, diabetes, e outras doenças metabólicas. Moléculas sinalizadoras representam um *link* direto entre pesquisa básica e aplicações clínicas (WU; COHEN; SPIEGELMAN, 2013).

2.4 Relação entre adipocinas, sistema imunológico e células sanguíneas

O tecido adiposo tem uma importante função endócrina, pois secreta uma variedade de proteínas sintetizadas e liberadas pelos adipócitos, denominadas adipocinas. Estas adipocinas têm diferentes funções, como: regulação de apetite e balanço energético, imunidade, sensibilidade a insulina, angiogenese, inflamação e resposta de fase aguda, pressão sanguínea e metabolismo de lipideos (MAFRA;

FARAGE, 2006). O tecido adiposo vem sendo considerado um órgão com funções neuroendócrina e imune. Dentre as adipocinas mais importantes estão a leptina, a adiponectina, a visfatina e a resistina, que atuam como hormônios na homeostasia da glicose, na regulação do apetite e como citocinas, promovendo a ligação da obesidade e a resistência a insulina, com o sistema imune e o processo inflamatório (TILG; MOSCHEN, 2006).

Recentemente a comunidade científica tem se esforçado para definir o papel de adipocinas, na interação entre o tecido adiposo, inflamação e imunidade. As adipocinas adiponectina e leptina surgiram como os principais produtos dos adipócitos, direcionando o tecido adiposo como um componente chave não só do sistema endócrino, mas também do sistema imunológico. Outras adipocinas, como visfatina, só recentemente foram identificadas. É rápido o crescimento da família de mediadores derivadas do adipócito que pode ter importância no desenvolvimento de novas terapias para doenças associadas à obesidade. O interesse no tecido adiposo branco aumentou dramaticamente desde a descoberta da leptina em 1994. Sua identificação deixou clara a relação do tecido adiposo com doenças relacionadas à obesidade, e estimulou a identificação de inúmeras outras adipocinas, muitas de natureza pró-inflamatória. Tornou-se cada vez mais evidente que as citocinas derivadas do tecido adiposo branco estão relacionadas à obesidade exógena (nutrição e estilo de vida) e aos eventos moleculares que levam à síndrome metabólica e doenças inflamatórias e / ou imunes (LAGO *et al.*, 2007).

O sistema imune é influenciado pelo balanço energético para exercer suas funções fisiológicas. Atualmente, uma importante via de ligação tem sido identificada entre esse sistema e o metabolismo, com a obesidade predispondo o individuo ao desenvolvimento de vários distúrbios, tais como algumas doenças imunomediadas. Hoje se sabe que o tecido adiposo tem papel endócrino aos produzir diversos hormônios e moléculas de bioativas, muitos destes relacionados ao sistema imune e à hematopoese, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), a interleucina 6 (IL-6), a interleucina 1 (IL-1), a quimiocina ligante 2 (CCL2), o inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 e as frações do complemento. Embora os macrófagos no tecido adiposo sejam a principal fonte de TNF, os adipócitos contribuem com quase 1/3 da concentração de IL-6 na circulação dos pacientes obesos, e a CCL2, produzida pelos adipócitos, é um fator importante na infiltração de macrófagos nesse tecido. A presença dos macrófagos ativos, juntamente com os adipócitos e outras células do tecido imune, pode gerar um

circulo vicioso, com recrutamento constante de macrófagos e produção de mais citocinas pró-inflamatorias (TILG; MOSCHEN, 2006).

A relação entre o tecido adiposo e o sistema imune é hoje bastante explorada e esta cada vez mais evidente. Recentemente, Vandanmagsar e colaboradores (2011) demonstraram que o receptor NLRP3 inflamassoma, presente nas células imunes inatas, detecta sinais de perigo associados à obesidade e leva a ativação da caspase-1 e a produção de interleucina 1b e interleucina, contribuindo para a inflamação crônica induzida pela obesidade. Com a compreensão da natureza e do mecanismo de ação das adipocinas, torna-se claro que o tecido adiposo não é apenas um órgão endócrino, mas também um órgão imune. (BARBOSA; REGO; SILVA, 2012.) Leptina e adiponectina são as adipocinas que mais interferem neste processo, e por isso, as mais estudadas.

Leptina

Conhecida atualmente como "hormônio da saciedade", o nome leptina é derivado do grego *leptos*, que significa magro (BENATTI; LANCHA JR, 2007). A leptina atua no controle do apetite, promovendo saciedade, mutação no gene ob ou deficiência do receptor para leptina leva à obesidade grave por falta dessa sinalização (FONSECA-ALANIZ, 2006; BENATTI; LANCHA JR, 2007; MOTA; ZANESCO, 2007). Nos humanos, a expressão do gene ob esta relacionada com o tamanho da massa de gordura corporal; é 75% mais alta em mulheres obesas que em homens obesos, o que sugere a influencia de hormônios sexuais na sua regulação (KLEINUBING, 2003). Assim, quanto maior a quantidade de tecido adiposo, maior a concentração de leptina produzida e liberada na circulação, uma vez que o percentual de gordura influencia nessa liberação (FONSECA-ALANIZ, 2006). A leptina tem receptores expressos em diferentes tecidos e as células do sistema imune, como os monócitos, as células *natural killer* (NK) e os linfócitos T CD4+ e CD8+ (FERN´ANDEZ-RIEJOS, 2010). Outras anormalidades secundarias são observadas na formação das células sanguíneas, hematopoese (BENNETT *et al.*, 1995), no metabolismo lipídico e da glicose (FRIEDMAN; HALAAS, 1998) além do sistema imune inato e adaptativo (SANCHEZ-MARGALET *et al.*, 2003; FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006). A concentração sérica de leptina é duas a três vezes mais elevada em mulheres que em homens (MARTIN *et al.*, 2002), sendo um dos hormônios que favorece a maior predisposição das mulheres ao desenvolvimento de doenças autoimunes *(*BARBOSA; REGO; SILVA, 2012). Desde os

últimos dez anos, estudos relacionam a leptina com o sistema imune, analisando seus efeitos imunomoduladores.

A leptina possui efeitos pró-inflamatórios que previnem algumas doenças infecciosas e atua como proteína de fase aguda (LA CAVA, 2004) de modo semelhante a IL-1 e ao TNF-α. No sistema imune, a leptina aumenta a produção de citocinas como TNF-α, a IL-6 e a interleucina 12 (IL-12), a adesão e a fagocitose em macrófagos, além de estimular a proliferação das células T e dos monócitos, levando ao aumento da competência imunológica (FONSECA-ALANIZ, 2006; ALVEZ, 2006). Nos neutrófilos, aumenta a quimiotaxia e a explosão oxidativa (MATARESE; MOSCHOS; MANTZOROS, 2005). Conclui-se que a leptina está relacionada tanto à resposta imune inata quanto adaptativa (TIAN *et al.*, 2002; BLANCO-QUIROS *et al.*, 2002; SANCHEZ-MARGALET, 2003).

Porém, na forma mais comum da obesidade, em que ocorre hiperleptinemia, causada por deficiência genética associada a uma resistência a leptina, observa-se prejuízos variáveis na resposta imune, dos quais o mais preocupante se refere ao aumento no numero de infecções (ALVEZ, 2006). Estudos já evidenciam que a presença circulante elevada de leptina pode estar relacionada com a resistência dessa proteína na obesidade. Essa resistência pode estar ligada a um defeito no transporte de leptina ao sistema nervoso central. A resistência ocorre por dois motivos: o transporte saturado de leptina através da barreira hemato-encefálica e anormalidade na ativação do receptor de leptina e transdução de sinal (SILVEIRA *et al.*, 2009). Nesse contexto, segundo Juge-Aubry *et al.* (2002), a insensibilidade do receptor de leptina é identificada pelas células T como um estado de deficiência de leptina, o que induz a uma disfunção do sistema imunológico similar a produzida pela desnutrição. Os autores sugerem ainda que o aumento dessa adipocina encontrado em indivíduos obesos causaria um comprometimento na resposta imunológica, fazendo com que esses sejam mais suscetíveis a doenças infecciosas e inflamações do que indivíduos eutróficos.

Adiponectina

A adiponectina é uma proteína plasmática secretada especificamente pelo tecido adiposo, sendo sua expressão maior no tecido adiposo subcutâneo do que no visceral. A adiponectina circula em altas concentrações no sangue humano (bem mais alta comparada com a leptina) e possui várias atividades biológicas. Ao contrário da maioria

das proteínas secretadas pelo tecido adiposo, a expressão de adiponectina diminui a medida que o tecido adiposo aumenta (GUIMARÃES *et al.,* 2007). Outros fatores característicos que influenciam na concentração sérica dessa adipocina são sexo, idade e estilo de vida. Mulheres possuem nível de adiponectina circulante maior do que homens, o que reflete um efeito androgênico (GREENBERG; OBIN, 2006).

Ao contrário de outras adipocinas, a adiponectina possui funções imunológicas anti-inflamatórias, pois age como proteção para fatores cardiovasculares e aumenta a sensibilidade a insulina, reduz a diferenciação mielóide, a produção de citocinas pelos macrófagos e a fagocitose (ALVEZ, 2006). No sistema imune inato, a adiponectina suprime o aumento da atividade citotóxica das células NK, reduz a produção e a atividade do TNF-α e da IL-6, e também induz a produção de mediadores anti-inflamatórios como a interleucina 10 (IL-10). Inibe, ainda, a proliferação e a atividade fagocítica dos monócitos, e reduz a capacidade fagocítica do macrófago. (WOLF *et al.*, 2004).

Essas repercussões imunológicas levam o indivíduo obeso a modificar sua resposta imune, tanto na imunidade inata como na imunidade adquirida. A resposta imunológica, frente às agressões agudas e crônicas na obesidade, está afetada devido às alterações das concentrações de mediadores inflamatórios, de populações linfocitárias, de células fagocitárias, de células apresentadoras de antígenos, pela ativação do sistema de complemento, dentre outros (ALVEZ, 2006).

2.5 Avaliação do estado nutricional

Devido ao fator de risco associado à obesidade visceral, é crescente o interesse na mensuração da distribuição da gordura corporal e da quantificação da adiposidade intra-abdominal. Apesar da existência de métodos mais sensíveis, a facilidade na aplicação do método antropométrico e ao baixo custo, uma vez que ele utiliza medidas externas das dimensões corporais, tornam este método o de maior aplicabilidade na prática clínica e nos estudos epidemiológicos que envolvem grandes amostras (RIBEIRO FILHO *et al.,* 2006). Usualmente, os parâmetros antropométricos clássicos utilizados para avaliar a obesidade abdominal são a Circunferência da Cintura (CC) e a Relação Cintura-Quadril (RCQ). O Índice de Massa Corporal (IMC) também é

vastamente utilizado como indicador de adiposidade corporal. Tais indicadores antropométricos são frequentemente associados às complicações metabólicas e cardiovasculares (VASQUES *et al.,* 2010).

Em estudo realizado com indivíduos obesos, apenas nas mulheres a CC e a RCQ apresentaram correlação forte e altamente significante à gordura visceral, embora mais fracas em relação ao estudo com não obesos. (KAMEL; MCNEILL; VAN WIJK, 2002). Esses resultados demonstraram que não é possível generalizar o uso da antropometria sem referência ao sexo e ao grau de obesidade. (VASQUES *et al.*, 2010). No geral, as desigualdades encontradas entre homens e mulheres quanto aos níveis de lipídeos podem ser explicadas pelas diferenças hormonais existentes entre os sexos. Após a menopausa, o término da produção de estrógenos pelos ovários provoca alterações nos níveis de lipídeos, com elevação nos níveis de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos (TG), proporcionando risco para determinadas doenças, quando comparadas aos homens. Em se tratando de doenças cardiovasculares, as mulheres apresentam sinais e sintomas, em média, de 10 a 15 anos mais tarde que os homens. Não foi esclarecido se há um efeito protetor dos estrógenos até a menopausa ou se são os hormônios sexuais masculinos que se encontram mais ligados à aterogênese (GRAVINA *et al.*, 2010).

Além do grau do excesso de gordura, a sua distribuição regional no corpo interfere nos riscos associados ao excesso de peso. O excesso de gordura abdominal representa maior risco do que o excesso de gordura corporal por si só. Esta situação é definida como obesidade andróide, ao passo que a distribuição mais igual e periférica é definida como distribuição ginecóide, com menores implicações à saúde do indivíduo (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1998). Devido à sua fácil aplicabilidade e ao baixo custo operacional, o IMC tem sido utilizado como um indicador de sobrepeso (IMC≥25kg/m2) e obesidade (IMC≥30kg/m2) geral em diversos estudos epidemiológicos envolvendo adultos e idosos. Entretanto, inúmeras modificações na composição corporal são observadas na obesidade, especialmente no envelhecimento, e a utilização conjunta do IMC e de um indicador de adiposidade central tem sido proposta (JANSSEN *et al.*, 2002).

O aumento de tecido adiposo na região abdominal é considerado um fator de risco independente para diversas morbidades, representando risco diferenciado quando comparada com outras formas de distribuição de gordura corporal. A circunferência da cintura é uma medida fácil e de baixo custo para uso em estudos populacionais. Além

disso, comparada com outros indicadores antropométricos é a melhor preditora da gordura visceral localizada na região abdominal, que se mostra fortemente correlacionada à maioria dos fatores de risco metabólico. Associada positivamente ao conteúdo de tecido adiposo visceral, a circunferência de cintura é considerada um importante indicador de adiposidade central, principalmente devido à sua relação direta com o risco para morbidades e mortalidade por todas as causas e/ou doenças cardiovasculares. O acúmulo de gordura nesta região é um importante fator de risco para diversas doenças, sendo esse diferenciado quando comparado a outras formas de distribuição de gordura corporal. Em adultos e idosos, a obesidade abdominal correlaciona-se com níveis aumentados de triglicerídeos e níveis reduzidos de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Quando comparada à CC, a relação cintura quadril (RCQ) não é considerada o melhor indicador de risco metabólico. Afirma-se que ocorrendo mudança na quantidade de gordura corporal, a RCQ pode não sofrer alteração, uma vez que o índice resulta de uma razão entre duas circunferências cujos valores podem variar igualmente, sem modificar a relação final. Contudo, quando realizado em idosos, a RCQ é considerada um melhor indicador de massa gorda quando comparada ao IMC (VASQUES *et al.*, 2010).

Assim como a obesidade abdominal, a concentração de lipídeos séricos é importante fator de risco para doenças cardiovasculares e outras comorbidades associadas. A mortalidade cardiovascular está relacionada com a redução de HDL e a elevação de triglicerídeos (NAGATSUYU *et al.*, 2009). A dislipidemia, quadro clínico caracterizado por concentrações anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue, pode ser determinada por fatores genéticos e ambientais. Evidências acumuladas ao longo de várias décadas, inclusive epidemiológicas, animais, metabólicas e clínicas, demonstraram que níveis elevados de colesterol total, colesterol LDL e triglicerídeos estão correlacionados com maior incidência de hiperlipidemia, hipertensão e doença aterosclerótica. Esse fato pode ser decorrente da grande atividade metabólica do tecido adiposo do abdome (ROCHA *et al.*, 2013).

2.6 Estudos da obesidade em modelos animais

O estudo dos mecanismos pelos quais a obesidade induz as disfunções fisiológicas pode ser facilitado com a utilização de modelo animal em ambiente de pesquisa. (NASCIMENTO *et al.,* 2008). A obesidade pode ser induzida em animais por alterações neuroendócrinas, dietéticas ou genéticas. Os modelos mais utilizados para indução de obesidade em ratos são a lesão do núcleo hipotalâmico ventromedial através da administração de glutamato monossódico ou lesão elétrica direta; ooforectomia; alimentação com dietas hipercalóricas; e manipulação genética para obesidade (DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006).

Existem diferentes modelos de animais, geralmente roedores, que desenvolvem a obesidade a partir de mutações genéticas. Entretanto, considerando que o modelo deve ser o mais próximo possível da gênese da obesidade em humanos, a indução dessa condição via consumo de alimento com alto valor energético parece ser o mais apropriado. Diferente dos humanos, a gênese da obesidade em animais de laboratório está relacionada, em grande parte, a modificações genéticas que podem alterar ou suprimir a secreção de neuropeptídios, hormônios relacionados com saciedade ou metabolismo. Além disso, de acordo com o gene modificado, os animais desenvolvem a obesidade precoce ou tardia, em conjunto com outras patologias associadas como resistência a insulina, *diabetes mellitus e* hipercolesterolemia, possibilitando a investigação da fisiopatologia da obesidade e das suas comorbidades (ROSINI; DA SILVA; MORAES, 2012).

Até o momento, os modelos animais de obesidade baseados na modificação de genes esta muito distante da gênese da obesidade em humanos, visto que são raros os casos de indivíduos obesos com alguma mutação genética. A secreção de leptina é um bom exemplo da diferença entre a gênese da obesidade em animais e em humanos. Em camundongos *ob/ob* (com mutação no gene *ob*), os níveis de leptina estão muito reduzidos, o que provoca quadro de hiperfagia e consequente obesidade. Quando esses animais são tratados com leptina, a ingestão alimentar é reduzida, gerando perda de peso (WILDING, 2001). No entanto, em indivíduos obesos, os níveis plasmáticos de leptina apresentam-se cerca de cinco vezes mais do que aqueles encontrados em pessoas magras, sugerindo uma possível resistência central a esse hormônio (CONSIDINE *et al.,* 1996).

É consenso que a administração de dieta hipercalórica é o modelo que mais condiz com a realidade da obesidade em seres humanos. A causa para os altos índices de obesidade no mundo têm se direcionado para a alta disponibilidade e consumo de

alimentos altamente palatáveis e energéticos, juntamente com uma redução no gasto de energia. Assim, os modelos de obesidade induzida por dieta podem ser mais apropriados para estudar a patologia obesidade. Há vários tipos de dietas para induzir obesidade que se revelam eficazes. Algumas dietas hipercalóricas são realizadas acrescentando hidratos de carbono e outras, aumentando a porcentagem de gorduras, a maioria delas varia entre 3,7 kcal/g e 5,4 Kcal/g, todas induzem obesidade (DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006). Em animais, os estudos apontam que a alimentação hiperlipídica é um componente importante na etiologia da obesidade, já que dietas hiperlipídicas comprovadamente levaram ao excesso de gordura corporal (WILLET, 1998; KATAN, 1999). Alguns estudos têm demonstrado a eficácia da ingestão de dietas hipercalóricas ou dietas hiperlipídicas na gênese da obesidade e de suas comorbidades, principalmente em porcos e em roedores da linhagem *Sprague-Dawley*. Os animais da linhagem *Wistar* também são utilizados em estudos em que a obesidade é induzida por dietas, e os resultados mostram que a quantidade de gordura encontra-se aumentada (ROSINI; DA SILVA; MORAES, 2012).

Ainda segundo Rosini (2012), para que a obesidade induzida por dieta seja eficaz, deve-se preocupar com o ambiente do biotério, principalmente quando utilizados roedores sem mutações genéticas, como os animais da linhagem *Wistar*. O número de animais por gaiola não deve ultrapassar quatro e seria ideal pequenos aumentos na temperatura do ambiente e no tempo do ciclo escuro. O aumento da temperatura ambiente diminui o gasto energético que o animal teria para manter sua temperatura corporal no caso de ambientes mais frios. Além disso, os roedores possuem hábitos noturnos e, assim, um aumento no período escuro proporcionaria maior tempo para a ingestão de alimento, principalmente se a dieta estiver em recipientes no piso da gaiola. A idade do animal no início do protocolo experimental também é fator que interfere no ganho de massa corporal. O maior metabolismo em animais jovens proporciona maior ganho de massa magra, por isso torna-se aconselhável que animais mais velhos, com aproximadamente 100 dias, sejam submetidos a indução da obesidade por dieta (TSCHOP; HEIMAN, 2001).

O resultado de algumas avaliações após o uso da dieta hipercalórica ainda é conflitante na literatura. Um dos resultados que ainda diverge é o peso corporal, uma vez que alguns autores não identificaram alteração no peso corporal após a dieta, (ESTADELLA *et al.*, 2005; FRANCO, 2009; ZAMBON *et al.*, 2009). Porém, outros estudos apresentaram aumento ou diminuição do peso corporal no grupo alimentado

com dieta rica em calorias (SANTOS, 2007; PAULI, 2009; DA SILVA *et al.,* 2010). Por outro lado, os resultados sobre as modificações na insulinemia também são conflitantes. Algumas investigações verificaram que a dieta pode aumentar os níveis de insulina (NASCIMENTO *et al.,* 2008), enquanto que em outros não foi observada diferença (ESTADELLA *et al.,* 2004).

Todos esses trabalhos são acompanhados por diferentes períodos de consumo da dieta, por diferentes tipos de ingredientes utilizados em sua confecção e tratamentos diferentes oferecidos aos animais, estes podem ser os motivos para tais discordâncias. A utilização do modelo de obesidade induzida por dieta em animais mostra-se eficiente para o estudo da fisiopatologia das complicações associadas à obesidade, visto que é o modelo mais próximo da gênese da obesidade em humanos. Torna-se necessária uma padronização utilizando a mesma dieta e condições ambientais para que o melhor período de tempo de consumo da dieta hipercalórica seja identificado.

3. MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no laboratório experimental da pós-graduação em nutrição, em conjunto com o setor de microbiologia/imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keiso Asami (LIKA), ambos situados na Universidade Federal de Pernambuco.

3.1 Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo experimental, prospectivo, pareado e aleatório.

3.2 Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (processo nº 26076.024365/2010-21), Anexo A, e seguiu todas as recomendações éticas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

3.3 Amostra

Foram utilizadas 64 (sessenta e quatro) ratas fêmeas, albinas, da linhagem *Wistar*, provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos no biotério, em gaiolas de propileno coletivas e identificadas, três animais por gaiola, em temperatura de 23 ± 2^0C, sob ciclo claro/escuro de 12 horas, recebendo ração e água a vontade.

As ratas utilizadas foram obtidas acasalando-se machos e fêmeas adultos, na proporção de um macho para três fêmeas, por um período de 16 dias. O diagnóstico da prenhez foi feito pela observação do crescimento do ventre (FISHBECK e

RASMUSSEN, 1987). Durante a gestação e lactação, as mães foram alimentadas com dieta de manutenção do laboratório, Labina/Purina do Brasil.

3.4 Divisão dos Grupos experimentais

Após o aleitamento, aos 22 dias de idade, as filhotes foram divididas inicialmente em dois grupos segundo o regime dietético a ser empregado:

- Grupo Controle (GC): constituído de 32 ratas que receberam dieta de manutenção do biotério (Labina-Purina do Brasil S/A).
- Grupo Obeso (GO): formado por 32 ratas alimentadas com dieta hipercalórica e hiperlipídica.

Cada grupo foi subdividido de acordo com o período que os animais consumiram as dietas: 04, 08, 12 ou 16 semanas de consumo das respectivas dietas (Figura1).

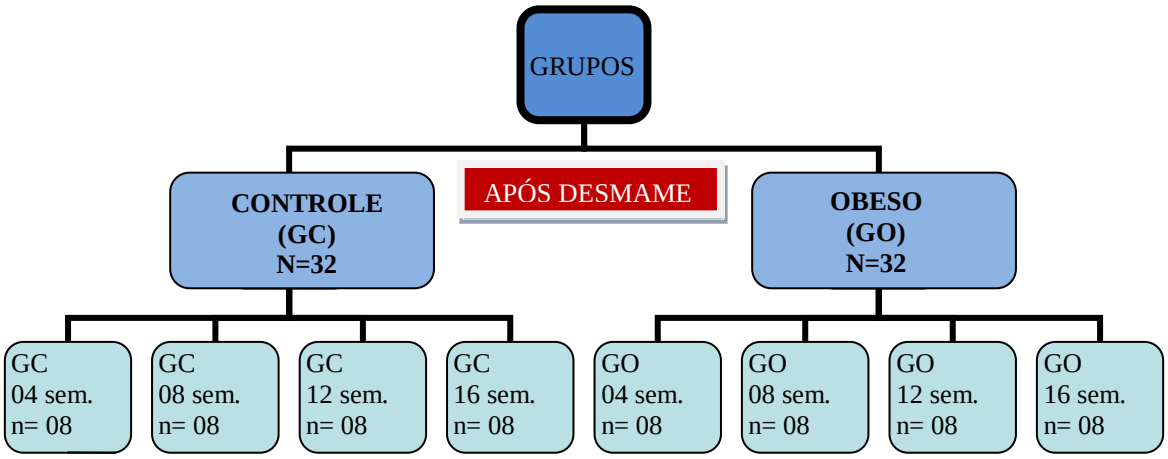


Figura 1 - Fluxograma de divisão dos grupos, Recife/PE (2014).

Sem. - semanas.

3.5 Dieta hipercalórica e hiperlipídica

A dieta utilizada para induzir obesidade consiste em uma mistura hiperlipídica (normoprotéica e hipercalórica) previamente descrita e utilizada por Duarte et al., 2006.

É composta por ração comercial LABINA®, amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1, respectivamente (Figura 2). Destes constituintes, a ração, o amendoim e o biscoito são moídos em trituradores elétricos, já o chocolate é derretido em banho Maria. Após esta primeira fase, todos os ingredientes são misturados até formarem uma massa, que é posteriormente aquecida em estufa e oferecida na forma de péletes. A dieta foi preparada semanalmente e armazenada a -20ºC (Tabela 1).

Figura 2 - Ingredientes para o preparo da dieta hipercalórica e hiperlipídica, Recife/PE (2014).

Tabela 1 - Composição das dietas controle e hipercalórica, Recife/PE (2014).

NUTRIENTES / CALORIAS	DIETA CONTROLE[1]	DIETA HIPERCALÓRICA[2]
Proteínas (g/100g)	23,0	17,93
Lipídeos (g/100g)	4,00	24,50
Carboidratos (g/100g)	63,00	47,18
Cinzas (g/100g)	-	3,62
Umidade e substâncias voláteis (g/100g)	-	6,77
Calorias (kcal/100g)	275,00	480,94

[1] Dados do fabricante, Labina-Purina do Brasil S/A, 2010.
[2] Análise realizada no LEAAL / UFPE (Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos), 2010.

3.6 Avaliação do peso corporal e da gordura abdominal

Os animais foram pesados inicialmente aos 21 dias de idade, a fim de identificar possíveis anormalidades de peso corporal antes da imposição das dietas. Assim, foram escolhidos animais com pesos equivalentes para formarem os distintos grupos. A partir do desmame até o final da administração da dieta, o peso corporal dos animais foi aferido semanalmente.

Foi utilizada uma mistura dos anestésicos Quetamina 10% e Xilasina 2%, via intraperitonial, na proporção Xilazina 8 a 15 mg/Kg + Quetamina 60 a 80 mg/Kg misturadas na mesma seringa. Para o preparo da solução foi utilizado 1,0 ml de Quetamina + 0,5 ml de Xilazina + 8,5 ml de água para injeção, volume total de 10 ml, esta solução era conservada em frasco estéril e com tampa de borracha e alumínio. Foram aplicadas 0,1 ml da solução para cada 12 g de peso do animal (COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL, 2011).

No dia posterior ao período de consumo da dieta, o animal foi anestesiado e submetido a uma incisão na região abdominal, todos os órgãos deste local foram retirados, a gordura foi separada e imediatamente pesada.

3.7 Avaliação do consumo alimentar e consumo energético

O consumo alimentar foi acompanhado diariamente, sempre no mesmo horário, durante a última semana do respectivo período consumo das dietas. O cálculo foi realizado pela subtração da alimentação inicial fornecida pela sobra da gaiola.

O consumo energético foi identificado multiplicando-se o consumo alimentar pela densidade calórica da dieta.

3.8 Acompanhamento de parâmetros antropométricos

Foram realizadas medidas para a identificação de: Índice de massa corporal (IMC), Índice de Lee e Relação abdômen-tórax (RAT). As medidas ocorreram durante a última semana do período de consumo da dieta.

Para o IMC foi utilizada a fórmula:

IMC = peso corporal (g) / (comprimento naso-anal)^2 (cm)^2

A RAT foi identificada pela fórmula:

RAT= Circunferência abdominal (cm) / Circunferência torácica (cm)

- Circunferência abdominal (CA): maior circunferência entre a borda superior da crista ilíaca e a última costela.
- Circunferência torácica (CT): linha perpendicular ao eixo longitudinal na altura da décima terceira vértebra torácica, últimas costela e região esternal.

Para o índice de Lee foi utilizada a seguinte fórmula

Índice de Lee = raiz cúbica do peso corporal (g)/ comprimento naso-anal (cm)

3.9 Análise de parâmetros bioquímicos

Ao final de cada período de consumo das dietas, os animais eram mantidos em jejum de 10 a 12 horas para a coleta de sangue. No dia posterior procedia-se à coleta de sangue pela extremidade da cauda. Foram avaliados colesterol total e frações (HDL e LDL), triglicerídeo e glicose.

A dosagem de glicose deu-se por monitor de glicemia, marca Accu-Chek Active, utilizando uma gota de sangue direto da cauda do animal.

Utilizaram-se tubos sem anticoagulante para coleta de 1,5 mL de sangue a ser utilizado na dosagem de colesterol e triglicerídeos. O sangue foi centrifugado a 2500 RPM por 15 minutos para obtenção do soro necessário para realização das dosagens. Os soros foram conservados em freezer a -20ºC até a realização das análises. As quantificações de triglicerídeos, colesterol total e HDL foram realizadas por método enzimático colorimétrico. A dosagem da fração LDL colesterol foi realizada pela fórmula de Friedewald: LDL = Colesterol total - (Triglicerídeos / 5 + HDL).

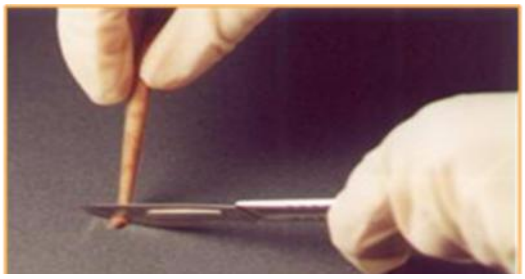


Figura 3 - Coleta de sangue

3.10 Avaliação dos parâmetros hematológicos

O perfil das células sanguíneas foi analisado através de hemograma. Coletou-se alíquota de sangue (0,5mL) da cauda dos animais em tubo com anticoagulante EDTA na proporção 1:9. O hemograma foi realizado por método automatizado (ABX Micros 60, Horiba). Para análise e confirmação dos resultados emitidos pelo equipamento utilizou-se a técnica do estiraço sanguíneo com lâminas coradas com o *kit* Panótico Rápido (LB-

Laborclin). Após preparação, foram examinadas ao microscópio óptico com objetiva de 100x sob imersão.

Figura 4 - Equipamento para realização do hemograma

3.11 Estudo dos parâmetros imunológicos

Lavado broncoalveolar

O LBA foi obtido através de procedimento cirúrgico de traqueostomia, de acordo com a técnica usada por De Castro et al. (1997), com o animal anestesiado com uma mistura dos anestésicos Quetamina 10% e Xilasina 2%, via intraperitonial 0,1 ml/12 g. Inicialmente, foi realizada antissepsia do local com álcool etílico a 70%, em seguida, cortados os pêlos e a pele na porção média do pescoço, abrindo-se e afastando-se as camadas musculares até obter acesso à traquéia. Com uma pequena pinça, a traquéia foi isolada e, com uma tesoura, realizado um pequeno orifício entre dois anéis traqueais na porção ventral da mesma.

Foi inserida, então, uma cânula plástica acoplada a uma seringa contendo 5 ml de solução fisiológica 0,9% à temperatura ambiente. Várias alíquotas de solução fisiológica foram injetadas, aspiradas e o material recolhido (LBA) foi depositado em tubo estéril cônico de polipropileno de 50mL (Falcon, Sigma). Recuperou-se, aproximadamente, 30mL de LBA de cada animal. Após coletado, o LBA ficou armazenado em banho de gelo e ao abrigo da luz até que seja analisado.

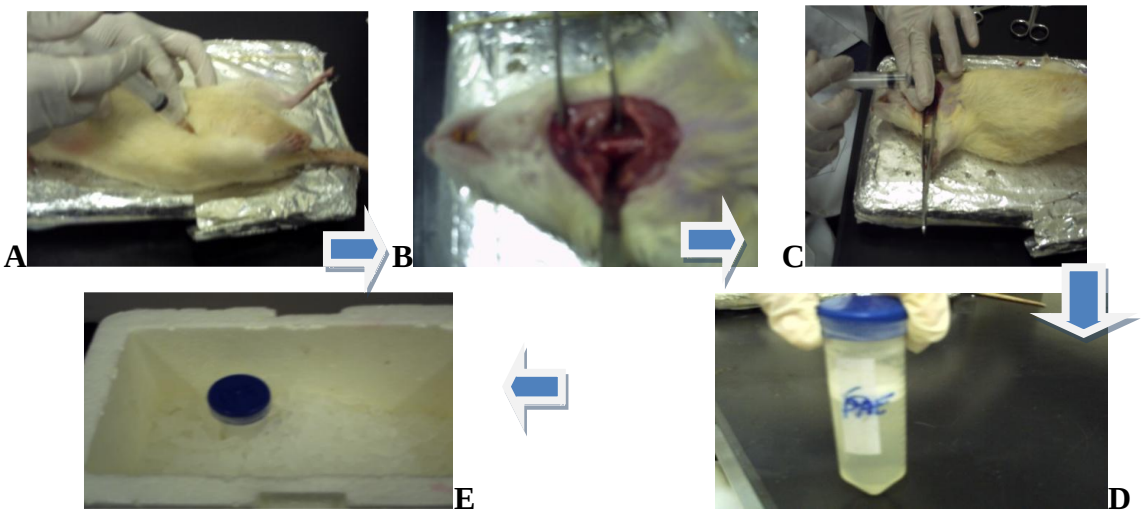


Figura 5 A- Anestesia; B- Traqueostomia; C- Obtenção do LBA; D- LBA coletado; E- LBA em banho de gelo.

Contagem dos leucócitos do lavado broncoalveolar

A contagem total das células foi realizada a partir de uma amostra do LBA, diluído de 1:10, em corante azul de tripam *(*10µL da suspensão de células e 90µL do corante azul tripan a 0,05%). Uma alíquota desta mistura foi levada à Câmara de Neubauer para contagem total dos leucócitos. Foi realizada a contagem de todos os leucócitos encontrados nos quatro campos marcados em L, na figura 6. O resultado final foi obtido após a aplicação da seguinte fórmula: Leucócitos = n x 10 x 10 / 4

n: número de leucócitos contados

4: número de quadrados contados

20: fator de conversão da diluição utilizada

10: fator de conversão para $1mm^3$

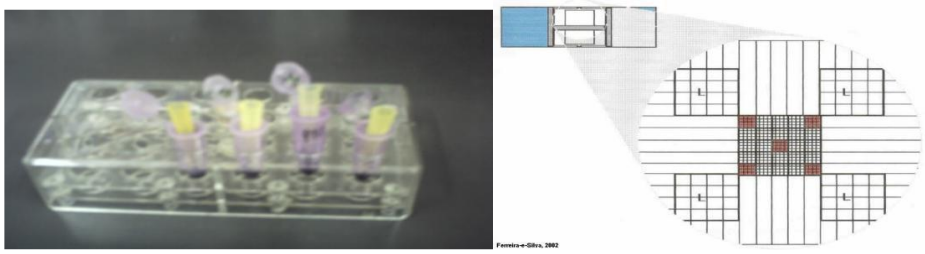


Figura 6 - Amostra do lavado broncoalveolar diluída em azul de *trypan* e Contagem total de leucócitos em câmara de Neubauer

A contagem diferencial foi realizada a partir de lâminas com LBA citocentrifugadas a 800 rpm/10min (CytoproTM- *Cytocentrifuge Wescor*), coradas com o *kit* Panótico Rápido (LB-Laborclin) e lidas ao microscópio óptico com objetiva de 100x sob imersão. A partir dos dados obtidos foi calculado o percentual de macrófagos.

Figura 7 - Centrífuga para citocentrifugado do lavado broncoalveolar

Cultura de macrófagos alveolares

Centrifugaram-se amostras do LBA a 1500 rpm durante 15 minutos. O precipitado que corresponde às células foi ressuspendido em RPMI 1640 (Gibco-Invitrogen Corporation) contendo 3% de soro fetal bovino (Gibco-Invitrogen Corporation) e antibiótico (penicilina 100U/mL e estreptomicina 100µg/mL; anfotericina B 0.25 µg/ml) (Sigma). As células foram transferidas para placas de cultura de 6 poços com 35mm de diâmetro cada (Falcon), nas quais foram dispensados 2mL da suspensão em uma proporção de 10^6 células/mL de RPMI 1640 em cada poço. Após 1h na incubadora a 37°C e 5% CO2, desprezou-se o sobrenadante com as células não aderentes e adicionou-se 2mL de RPMI, deixando-se as placas por mais 1h em incubadora para estabilização das células.

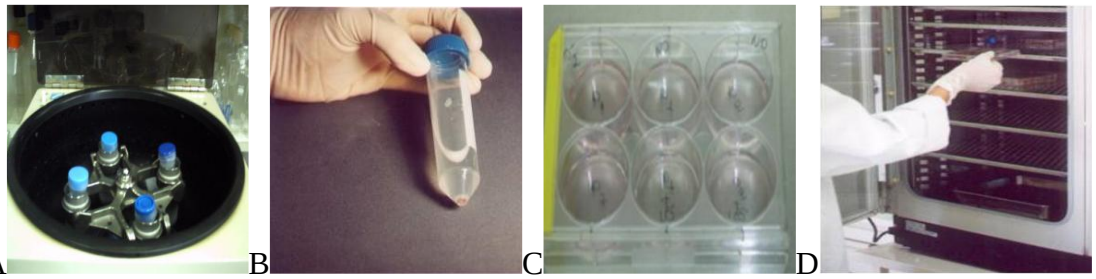


Figura 8 A- LBA em centrífuga; B- LBA centrifugado; C- LBA em placas de cultura; D- Placas com LBA em estufa de CO2

Taxa de fagocitose

Para se avaliar a taxa de fagocitose, foram utilizados fungos S*accharomyces sp.* Os fungos foram lavados três vezes com solução tampão de fosfato a 0,01M; contados 10^7 células em 200 µl de tampão de fosfato. Em seguida, 200 µl da suspensão com 10^7 fungos foram misturados em 800 µl da suspensão contendo 10^6 macrófagos em meio RPMI 1640. As células (macrófagos e fungos) foram então distribuídas em lâminas de microscopia óptica e incubadas a 37ºC, em câmara com atmosfera úmida, durante o período de 1 hora. Em seguida, as lâminas são lavadas com água destilada, secadas à temperatura ambiente e coradas com kit Panótico Rápido (LB-Laborclin). A leitura foi feita em microscópio óptico, com aumento de 1.000 vezes. A taxa de fagocitose foi obtida em percentual, através da contagem de macrófagos que fagocitaram o fungo, em um total de 100 células.

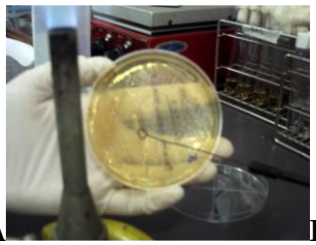
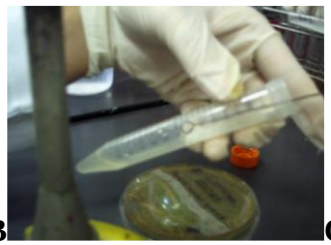
A  **B**  **C**

Figura 9 A- Retirada do fungo da placa de cultura; B- Diluição do fungo ; C- Câmara úmida para fagocitose.

3.12 Análise estatística

Para avaliação de diferença estatística entre os grupos, foi utilizado o teste *t de Student* para os dados paramétricos e o teste de *Mann-Whitney* para os dados não paramétricos. Os testes foram aplicados considerando-se um nível de significância de 5%. Os resultados foram representados em média ± desvio-padrão.

4. RESULTADOS

A partir dos resultados obtidos com a presente pesquisa, foram construídos dois artigos científicos originais.

ARTIGO I:

Obesidade induzida por dieta hiperlipídica e hipercalórica consumida por diferentes períodos de tempo: efeitos sobre parâmetros antropométricos e bioquímicos de ratas

Enviado à Revista de nutrição PUC-Campinas, Qualis B1, (Anexo B).

ARTIGO II:

Efeito da obesidade em diferentes tempos de consumo de dieta hipercalórica: quantidade e função de macrófagos alveolares e perfil das células sanguíneas de ratas

Enviado à Revista da Academia brasileira de ciências, Qualis B1, (Anexo C).

Obesidade induzida por dieta hiperlipídica e hipercalórica consumida por diferentes períodos de tempo sobre parâmetros antropométricos e bioquímicos de ratas

Obesity induce by consumption of high fat and high calorie consumed for different periods of time on anthropometric and biochemical parameters in female *rats*

RESUMO

Objetivo

Analisar as implicações do consumo de uma dieta hiperlipídica e hipercalórica em períodos de tempo diferentes sobre parâmetros antropométricos e bioquímicos de ratas fêmeas da linhagem Wistar.

Métodos

64 ratas recém-desmamadas foram divididas nos grupos, controle (GC) e obeso (GO). O grupo controle foi alimentado com dieta comercial padrão e o grupo obeso com dieta hiperlipídica e hipercalórica. Cada grupo foi dividido em diferentes tempos de consumo da dieta: quatro, oito, doze ou dezesseis semanas. Foram avaliados: peso corporal, peso da gordura abdominal, circunferência abdominal, relação abdômen-tórax, índice de massa corporal, índice de Lee, além das dosagens sanguíneas de glicose, triglicerídeo, colesterol total e frações HDL e LDL.

Resultados

Mesmo os animais do grupo obeso consumindo menos alimento, o consumo energético manteve-se maior que os controles. O peso corporal e a quantidade de gordura abdominal foram maiores em todos os tempos do grupo obeso. A avaliação antropométrica que mais se correlacionou com a obesidade imposta foi a circunferência abdominal. Houve hiperglicemia e hipertrigliceridemia nos obesos em todos os tempos estudados. Já o colesterol sanguíneo só foi elevado após dezesseis semanas de dieta, não interferindo nas frações LDL e HDL.

Conclusão

A indução de obesidade pelo consumo de dieta hiperlipídica e hipercalórica em tempos que variam de quatro a dezesseis semanas foi eficaz em ratas Wistar. O aumento de peso corporal, gordura abdominal e taxas de glicose e triglicerídeos refletem a obesidade imposta. Já o único parâmetro antropométrico que refletiu o excesso de gordura foi a circunferência abdominal.

Termos de indexação: Gorduras na dieta; Obesidade; Bioquímica; Murinometria; Ratas *Wistar.*

ABSTRACT

Objective

This study analyzed the effects of the consumption of the same high fat and high calorie diet for different time cycles in murinométrics patterns, food efficiency and biochemical of female *Wistar* rats.

Methods

64 newly weaned rats were divided into groups control (GC) and obese (GO). The control group was fed of standard commercial diet and the obese group with high fat and high calorie diet. Each group had their animals divided into four different times of dietary intake: four, eight, twelve or sixteen weeks. After each cycle of time studied were evaluated: body weight, abdominal fat weight, abdominal circumference, chest-abdomen ratio, body mass index, Lee index, in addition was measurements glucose, triglyceride, total cholesterol and HDL and LDL in blood.

Results

The obese animals group consumed less feed but the energy consumption was higher than the controls. Body weight and amount of abdominal fat were higher at all times of the obese group. The evaluation murinometric review that waist circumference was most associated with obesity imposed. The high fat and high calorie diet was effective in causing hyperglycemia and hypertriglyceridemia in all time points. The levels of blood cholesterol increased only after sixteen weeks of diet, not interfering in the fractions.

Conclusion

Induction of obesity in female rats *Wistar* is effective by the consumption of high fat and calorie diet in times ranging from four to sixteen weeks. The time required for dietary intake should depend on the purpose of the study.

Indexing terms: *Dietary fats; Obesity; Bioquemistry; Murinometria; Wistar Rats.*

INTRODUÇÃO

Uma vez considerado um problema em países de rendimento elevado, sobrepeso e obesidade, aumentaram drasticamente em países de baixa e média renda, especialmente nas áreas urbanas. É um grave problema de saúde pública, atingindo proporções epidêmicas em todo o mundo, sendo o continente americano o mais afetado.[1]

Estes países estão a enfrentar uma "dupla carga" de doença: enquanto eles continuam a lidar com os problemas das doenças infecciosas e desnutrição ao mesmo tempo, estão experimentando um rápido surto de fatores de risco de doenças crônicas tais como obesidade e sobrepeso[2] com grande impacto sobre o padrão de morbidade de populações adultas.[3]

Neste contexto, destacam-se as mulheres, com as mais altas prevalências de obesidade.[1] São descritos como fatores contributivos para o sexo feminino a alta paridade, a incorporação no mercado de trabalho e o menor esforço dispensado no trabalho doméstico.[4] Há ainda fatores fisiológicos que predispões os altos números de obesidade em mulheres, como a interferências de hormônios sexuais e adipocinas.[5,6]

As causas da obesidade na população são múltiplas e complexas.[7] Para alguns autores, a influência do meio ambiente é causa primaria da obesidade, pois o genótipo humano não mudou substancialmente nas três ultimas décadas. Este modelo em particular e extremamente útil nas pesquisas com obesidade em animais de laboratório devido a sua grande semelhança com a gênese e com as respostas metabólicas decorrentes da obesidade em humanos.[8] Ou seja, a obesidade pode ser consequência de um balanço energético positivo gerado, como por exemplo, pelo consumo em excesso de alimentos altamente calóricos.[9]

O estudo dos mecanismos pelos quais a obesidade induz as disfunções fisiológicas pode ser facilitado com a utilização de modelo animal em ambiente de pesquisa.[10] A obesidade pode ser induzida em animais por alterações neuroendócrinas, dietéticas ou genéticas. Destas, a administração de dieta hipercalórica é o modelo mais simples para indução da obesidade e um dos que mais se assemelha à realidade da obesidade em seres humanos.[8]

Apesar dos vários estudos com este tipo de dieta hipercalórica, ainda são conflitantes na literatura os resultados de peso corporal, consumo alimentar e dosagens bioquímicas. Vários estudos têm sido realizados com ratos tornados obesos por dieta hipercalórica, no entanto, é enorme a quantidade de variáveis que podem interferir nos resultados, dentre elas o sexo e o período de consumo das dietas. Em estudo de revisão realizado por Rosini (2012),[10] verificou-se que quase 100% dos estudos com dieta hipercalórica para indução da obesidade, utiliza ratos machos

porém sabe-se que, os resultados não podem ser fidedignamente repassados para as fêmeas, principalmente quando o assunto é obesidade.

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa é analisar as implicações do consumo de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica por diferentes tempos em parâmetros murinométricos e bioquímicos em modelos de ratas fêmeas, a fim de esclarecer as diferenças de respostas dependendo do período de oferta da dieta e do sexo do animal.

MÉTODOS

Foram utilizadas ratas fêmeas, albinas, da linhagem *Wistar*, recém-desmamadas, provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. As condições ambientais foram controladas com os animais mantidos no biotério em gaiolas de propileno, três animais por gaiola, temperatura ambiente de 23 $\pm$ 2^0C, sob ciclo claro/escuro de 12 horas, recebendo ração e água a vontade. Todos os animias tiveram o mesmo ciclo claro/escuro e a mesma temperatura ambiente. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco/Brasil (processo nº 26076.024365/2010-21) e seguiu todas as recomendações éticas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

64 animais foram divididos inicialmente em dois grupos segundo a ração a ser consumida, manutenção ou hiperlipídica hipercalórica. O grupo controle (GC) foi alimentado com dieta padrão de manutenção do biotério (Labina-Purina do Brasil S/A), 275 kcal/100g; O grupo obeso (GO) foi alimentado com dieta hiperlipídica e hipercalórica, de confecção própria, com 481 kcal/100g. Cada grupo de estudo foi subdividido em diferentes tempos de consumo das dietas: 04, 08, 12 ou 16 semanas. A dieta padrão foi disponibilizada ao grupo controle apenas sobre a gaiola, já para o grupo obeso, também foi disponibilizada dieta no chão da gaiola.

Dieta hipercalórica

A dieta utilizada para induzir a obesidade consiste em uma mistura hiperlipídica (normoprotéica e hipercalórica). Foi composta por ração comercial Labina®, amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1, respectivamente. Destes constituintes, a ração, o amendoim e o biscoito foram moídos em trituradores elétricos, já o chocolate é derretido em banho Maria. Após esta primeira fase, todos os ingredientes foram misturados até formarem uma massa, que era posteriormente aquecida em estufa e oferecida na forma de péletes. A dieta foi preparada

semanalmente e armazenada em congelador. A composição das dietas é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição das dietas consumidas por ratas *Wistar* durante o período experimental. Recife (PE), 2014.

NUTRIENTES	VALOR ENERGÉTICO DAS DIETAS	
	PADRÃO[1]	HIPERLIPÍDICA E HIPERCALÓRICA [2]
Proteínas (g/100g)	23	17,93
Lipídeos (g/100g)	4	24,5
Carboidratos (g/100g)	63	47,18
Cinzas (g/100g)	-	3,62
Umidade e substâncias voláteis (g/100g)	-	6,77
TOTAL (kcal/100g)	275	480,94

[1] Dados do fabricante, Labina-Purina do Brasil S/A.
[2] Análise realizada no Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos / Universidade Federal de Pernambuco (LEAAL / UFPE).

Parâmetros murinométricos

Os animais foram pesados logo após o desmame, aos 22 dias de idade, a fim de identificar possíveis anormalidades de peso corporal antes da imposição das dietas. Assim, foram escolhidos animais com pesos equivalentes para formarem os distintos grupos. A partir do desmame até o final da administração da dieta, o peso corporal dos animais foi aferido semanalmente.

O índice de massa corporal (IMC), índice de Lee e relação abdômen tórax (RAT) foram identificados no último dia de administração das dietas. Para o IMC foi utilizada a fórmula: IMC = peso corporal (g)/(comprimento naso-anal)^2 (cm). O índice de Lee foi avaliado pela fórmula: Índice de Lee = raiz cúbica do peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm). Para a RAT, foram identificadas a circunferência torácica (CT) (linha perpendicular ao eixo longitudinal na altura da décima terceira vértebra torácica, últimas costela e região esternal) e a circunferência abdominal (CA) (maior circunferência entre a borda superior da crista ilíaca e a última costela). A RAT foi então calculada pela fórmula RAT = Circunferência abdominal (cm) /Circunferência torácica (cm).

Consumo alimentar e energético

O consumo alimentar foi acompanhado diariamente, sempre no mesmo horário, durante a última semana do respectivo período consumo das dietas. O cálculo foi realizado pela subtração da alimentação inicial fornecida pela sobra da gaiola.

O consumo energético (CE) foi identificado multiplicando-se o consumo alimentar pelo valor energético da dieta.

Análises bioquímicas

Após cada período de consumo das dietas, os animais eram mantidos em jejum de 12 horas durante a noite. No dia seguinte, procedeu-se à coleta de sangue pela extremidade da cauda do animal.

A dosagem de glicose deu-se por monitor de glicemia, marca Accu-Chek Active, utilizando uma gota de sangue direto da cauda. Utilizaram-se tubos sem anticoagulante para dosagem de colesterol e triglicerídeos. O sangue foi centrifugado a 2500 RPM por 15 minutos para obtenção do soro necessário para realização das dosagens, os quais foram conservados em freezer a -20ºC. As análises de triglicerídeos (TG), colesterol total (CT) e lipoproteína de alta densidade (HDL) foram realizadas por método enzimático colorimétrico. A dosagem da lipoproteína de baixa densidade (LDL) foi realizada pela fórmula de Friedewald: LDL = (CT - HDL) - (TG/5).

Gordura abdominal

Após a coleta de sangue o animal foi anestesiado com uma mistura dos anestésicos Quetamina 10% (5 a 10 mg/Kg) e Xilasina 2% (50 a 75 mg/Kg) via intraperitoneal e submetido a uma incisão na região abdominal, todos os órgãos deste local foram retirados, a gordura foi separada e imediatamente pesada.

Análise estatística

Para avaliação de diferença estatística entre os grupos, foi utilizado o teste *t de Student* para os dados paramétricos e o teste de *Mann-Whytney* para os dados não paramétricos. Os testes foram aplicados considerando-se um nível de significância de 5%. Os resultados foram representados em média ± desvio-padrão.

RESULTADOS

O estudo do consumo alimentar identificou que o grupo controle consumiu mais dieta em todos os períodos. No entanto, o consumo energético manteve-se maior no grupo obeso em todos os períodos estudados (Tabela 2), devido ao aporte energético da dieta.

As médias de peso dos animais encontram-se expostas na Figura 1. Nota-se que a média de peso dos animais do grupo obeso foi maior em todos os ciclos de tempo. A dieta hipercalórica e hiperlipídica também provocou aumento de gordura

abdominal. Pode-se inferir da Figura 2 que a gordura abdominal do grupo obeso foi maior nos quatro períodos avaliados.

A circunferência abdominal foi a análise murinométrica mais fidedigna à obesidade imposta, pois esteve alterada em todos os períodos estudados. A RAT só sofreu interferência da obesidade quando os animais eram mais jovens, com 4 ou 8 semanas de consumo. Já o IMC e o índice de Lee não sofreram alteração em nenhum período avaliado (Tabela 3).

A avaliação da interferência da dieta na análise bioquímica revelou que a glicemia e a trigliceridemia estavam aumentadas no grupo obeso em todos os ciclos pesquisados. Já o colesterol total só se apresentou elevado nos obesos com 16 semanas de consumo da dieta hiperlipídica e hipercalórica. As concentrações das frações HDH e LDL colesterol não diferiram entre os grupos (Tabela 4).

Tabela 2. Média ± desvio padrão do consumo alimentar e energético de ratas Wistar submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014.

GRUPO/TEMPO DE DIETA	CONSUMO ALIMENTAR		CONSUMO ENERGÉTICO	
	X (g)/dia	DP	X (cal)/dia	DP
Ob. 04 sem.	11,2 * (p=0,029)	0,7	54,1 * (p=0,029)	3,6
Con. 04 sem	15	0,08	41,2	0,2
Ob. 08 sem.	13,2 * (p=0,01)	0,9	63,4 * (p=0,001)	4,6
Con. 08 sem	16,5	0,3	45,3	0,9
Ob. 12 sem.	13,1 * (p=0,001)	1,7	60,1 * (p=0,001)	1,9
Con. 12 sem	18,6	1,1	51,2	3
Ob. 16 sem.	10,2 * (p=0,029)	0,1	49,4 * (p=0,029)	0,6
Con. 16 sem	16,3	0,8	44,8	2,3

Ob - obeso; Con - controle; sem - semanas; X – média; g – gramas; dp – desvio-padrão; cal – calorias; * - diferença estatística; (p) – significância; p=0,05; cada grupo com n=08.

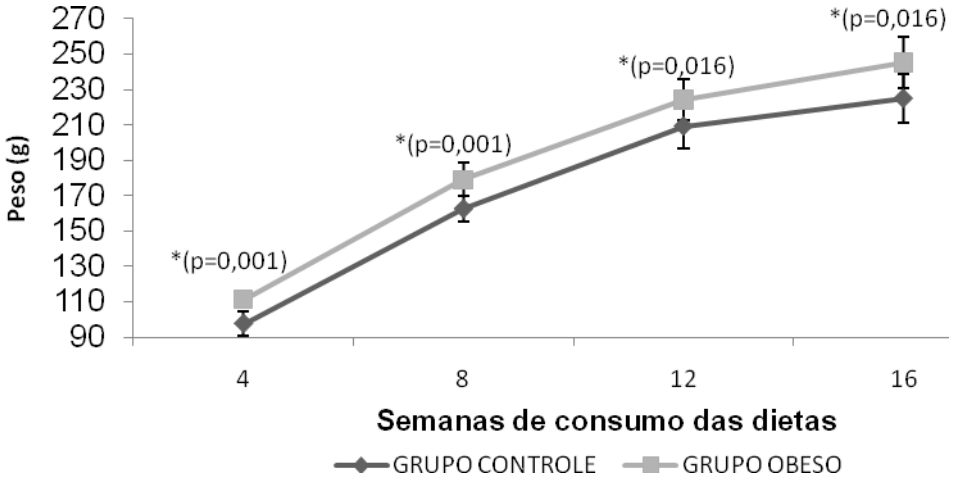


Figura 1. Média ± desvio padrão do peso corporal de ratas Wistar submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014.
g - gramas; * - diferença estatística; (p) – significância; p=0,05; cada grupo com n=08.

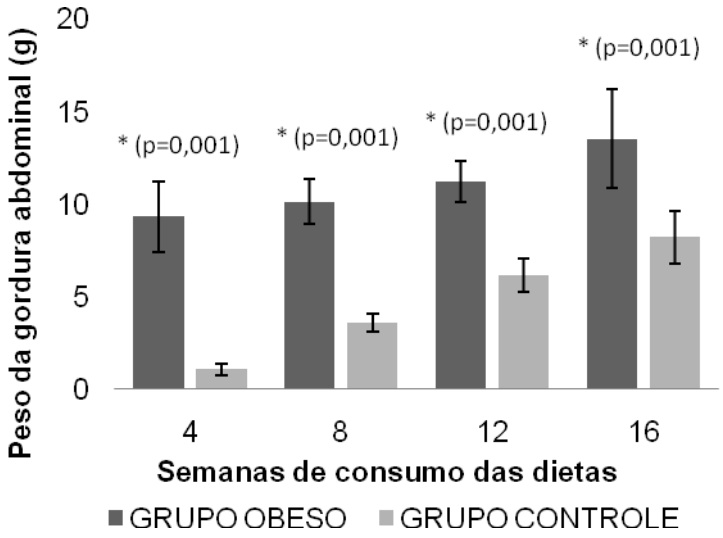


Figura 2. Média ± desvio padrão da gordura bdominal de ratas Wistar submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014.
g - gramas; * - diferença estatística; (p) – significância; p=0,05; cada grupo com n=08.

Tabela 3. Média ± desvio padrão da murinometria de ratas *Wistar* submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014.

GRUPO	CA X (cm)	RAT X	IMC X	I LEE X
Ob. 04 sem.	11,2 ± 0,4 *(p=0,006)	1,12 ± 0,04 *(p=0,045)	0,41 ± 0,001	0,29 ± 0,004
Con. 04 sem	9,94 ± 0,53	1,06 ± 0,03	0,39 ± 0,001	0,29 ± 0,006
Ob. 08 sem.	12 ± 0,001 *(p=0,036)	1,1 ± 0,001 *(p=0,001)	0,5 ± 0,001	0,3 ± 0,005
Con. 08 sem	11,50 ± 0,001	0,95 ± 0,03	0,51 ± 0,03	0,31 ± 0,008
Ob. 12 sem.	14,5 ± 0,57 *(p=0,006)	1,2 ± 0,003	0,53 ± 0,01	0,29 ± 0,005
Con. 12 sem	11,71 ± 0,9	1,07 ± 0,1	0,53 ± 0,02	0,3 ± 0,008
Ob. 16 sem	15,25 ± 0,5 *(p=0,001)	1,12 ± 0,05	0,54 ± 0,03	0,29 ± 0,005
Con. 16 sem	12,83 ± 0,7	1,1 ± 0,06	0,57 ± 0,03	0,31 ± 0,009

Ob - obeso; Con - controle; sem - semanas; CA - circunferência abdominal; RAT - relação abdômen-tórax; IMC - índice de massa corporal; I Lee - índice de Lee; X – média; * - diferença estatística; (p) - significância; p=0,05; cada grupo com n=08

Tabela 4. Média ± desvio padrão da análise bioquímica de ratas *Wistar* submetidas à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Recife/PE, 2014.

GRUPO	GLICOSE X (mg/dL)	TRIGLIC. X (mg/dL)	CT X (mg/dL)	HDL X (mg/dL)	LDL X (mg/dL)
Ob. 04 sem.	133,2 ± 15 *(p=0,004)	241,6 ± 38 *(p=0,025)	61,2 ± 5	19 ± 3,1	18,4 ± 5,1
Con. 04 sem	108 ± 13	166,3 ± 28	57 ± 4,5	22 ± 2	18,3 ± 6,6
Ob. 08 sem.	144 ± 2,9 *(p=0,001)	148 ± 17 *(p=0,026)	65,4 ± 3,5	24,2 ± 3,4	26,4 ± 1,5
Con. 08 sem	126,5 ± 1,9	117 ± 4	63,3 ± 5,5	22 ± 2	29,5 ± 7,6
Ob. 12 sem.	163 ± 14 *(p=0,001)	144,4 ± 14 *(p=0,036)	68,4 ± 11	22,2 ± 4,2	31,7 ± 7,2
Con. 12 sem	140,8 ± 10	86,6 ± 5,6	62 ± 4	20 ± 1	33,3 ± 4,8
Ob. 16 sem.	166 ± 4,7 *(p=0,001)	128,4 ± 2,9 *(p=0,001)	55,4 ± 5,6 *(p=0,034)	24 ± 4,3	18,5 ± 6,9
Con. 16 sem	134,7	70,6	45,6	21,6	9,8

Ob - obeso; Con - controle; sem - semanas; Triglic - Triglicerídeos; CT - colesterol total; HDL - lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; X – média * - diferença estatística; (p) – significância; p=0,05; cada grupo com n=08.

DISCUSSÃO

De acordo com Diniz *et al.* (2008),[11] a indução de obesidade por dieta hipercalórica é o modelo experimental que mais se assemelha à obesidade dos humanos. A obesidade é descrita por vários autores como o excesso de gordura relacionado a prejuízos à saúde.[12] A gordura relacionada a maiores prejuízos ao organismo encontra-se na região abdominal, denominada obesidade andróide. No estudo com modelos experimentais, o período de consumo da dieta hierlipídica é variado, a maioria inclui-se na faixa entre quatro a 20 semanas, mas frequentemente os protocolos utilizam oito semanas com ratos machos.

No presente estudo, a dieta hiperlipídica e hipercalórica utilizada foi eficaz em induzir obesidade. A base para esta afirmação é o aumento de peso corporal identificado nos animais que receberam a dieta e, principalmente, pelo excesso de gordura abdominal.

Mesmo utilizando ratos machos na pesquisa, outros autores encontraram resultados semelhantes. Borba *et al*. (2011),[13] identificaram aumento de peso corporal e maior acúmulo de tecido adiposo após induzirem obesidade em ratos com dieta hiperlipídica (66% de lipídeos) por oito semanas. Estes resultados corroboram com vários outros autores que identificaram aumento de peso corporal e acúmulo de tecido adiposo de forma predominante na região do abdômen, após administração de dietas hiperlipídicas e hipercalóricas. Exemplos que apoiam estes estudos são Ravagnani *et al.* (2012)[14]; Nascimento et al. (2008),[15] consumo por 14 semanas; Oliveira Júnior et al. (2009),[16] consumo por 20 semanas. Porém, os resultados de peso corporal não são totalmente concordantes, talvez este seja o dado de maior discrepância quando se utiliza a dieta hiperlipídica. Silva (2010)[17] não identificou diferença de peso corporal após utilizar a dieta hiperlipídica por 18 semanas. Resultado corroborado por Zambom *et al.* (2010),[18] ao administrarem dieta por três semanas; além de Franco *et al.* (2009)[19], ao utilizarem a dieta por oito semanas.

Na literatura científica a alimentação hiperlipídica é considerada um componente importante na etiologia da obesidade, já que estas dietas comprovadamente levaram ao excesso de gordura corporal.[14-16,20] Porém, diferentemente dos humanos, a gênese da obesidade em animais de laboratório está relacionada, em grande parte, as modificações genéticas.[10] Quando utilizados roedores sem mutações genéticas, como os animais da linhagem *Wistar,* o cuidado com o ambiente do biotério deve ser maior.[10] A idade do animal no início do protocolo experimental também é fator que interfere no ganho de massa corporal. Santos & Vianna (2007),[21] ao iniciar a imposição da dieta hipercalórica com animais de cinco

semanas de idade, identificou aumento ponderal de duas vezes, bem superior ao encontrado quando a dieta é oferecida a animais recém desmamados. O maior metabolismo em animais jovens proporciona maior ganho de massa magra, por isso torna-se aconselhável que animais mais velhos, com aproximadamente 100 dias, sejam submetidos à indução da obesidade por dieta.[9]

Um fator diretamente relacionado ao maior peso corporal e excesso de tecido adiposo é o consumo energético. Santos & Vianna (2007),[21] corroboram com o presente estudo, pois concordam que os animais submetidos à dieta hiperlipídica consomem menos alimento, porém, devido ao aporte energético da dieta, o consumo energético permanece maior que o controle. Quando a ingestão de energia cronicamente excede o gasto energético, têm-se como resultado ganho de peso e, possível, obesidade. Este excesso de peso é armazenado no tecido adiposo, que consiste em células de gordura, ou adipócitos, com a incrível capacidade de armazenamento de energia excedente na forma de lipídios.[22] Porém este dado ainda discutido pois em algumas pesquisas. Em estudos como Duarte et al. (2006),[23] o consumo diário de ração não diferiu entre os grupos, mas em todos os casos o consumo energético é maior .

Não se sabe o período em que a dieta seria mais eficaz, uma vez que é utilizada em períodos que variam de três a vinte semanas. Os ingredientes para a confecção da dieta é outro ponto importante, visto que dietas com o mesmo valor calórico pode apresentar-se mais ou palatável. As condições ambientais do biotério também têm sido mencionadas como interferentes, uma vez que se aconselha maior tempo no ciclo escuro, disponibilidade de comida no chão da gaiola e temperatura mais elevada. Estes fatores contribuem para o maior consumo de alimento e menor gasto energético.[10]

Outro fator limitante no estudo com obesidade é o sexo do modelo animal. Sabe-se que o sexo é fator de grande interferência quando se trata de armazenamento de tecido adiposo. Deve-se considerar que o sexo masculino tem taxas de crescimento naturais relacionadas a fatores hormonais, o que implica em maior peso corporal.[5] Já nas fêmeas, o comportamento hormonal leva a menor crescimento corporal e maior armazenamento de gordura. Além da estrutura natural do sexo, a concentração dos hormônios leptina,[24] e adiponectina,[6] ligados à saciedade e a alterações metabólicas, são mais elevados no sexo feminino, o que pode influenciar no consumo alimentar e energético, interferindo na indução da obesidade.

Além do grau do excesso de gordura, a sua distribuição regional no corpo interfere nos riscos associados ao excesso de peso, sabe-se que o excesso de

gordura abdominal representa maior risco. As medidas corporais são uma forma de avaliar o excesso de gordura, sobretudo aquelas mais relacionadas com o tecido adiposo abdominal.[25] A análise murinométrica realizada mostrou que a circunferência da cintura é a avaliação que mais reflete a realidade da obesidade em ratas fêmeas Wistar alimentadas com dieta hiperlipídica e hipercalórica. Esta avaliação mostrou-se alterada em todos os grupos que apresentaram excesso de gordura abdominal. A relação abdômen-tórax não acompanhou a circunferência abdominal, uma vez que só mostrou-se alterada após quatro e oito semanas de dieta.

Segundo Vasques *et al.* (2010),[25] a CA comparada com outros indicadores antropométricos é a melhor preditora da gordura visceral localizada na região abdominal. Afirma-se que ocorrendo mudança na quantidade de gordura corporal, a relação entre esta região e outras partes do corpo pode não sofrer alteração, uma vez que o índice resulta de uma razão entre duas circunferências cujos valores podem variar igualmente, sem modificar a relação final. Já o índice de massa corporal foi desenvolvido para humanos e, no presente estudo, não mostrou boas correlações com a obesidade de ratas. O índice de Lee, apesar de ser pensado para modelos animais, apenas mostrou-se alterado após longo tempo de consumo da dieta obesogênica. Como ambos os índices utilizam proporções inversas ao comprimento, tais achados podem refletir um maior crescimento das ratas obesas, o que anularia um peso corporal maior.

Em relação à bioquímica, foi identificado atuação da dieta hiperlipídica em elevar os níveis de glicose e triglicerídeos em ratas desde apenas quatro semanas de dieta. Enquanto a glicose aumenta com o tempo, os triglicerídeos mostram-se maior após quatro semanas de dieta e reduzem com o tempo. Já o colesterol total demandou mais tempo para elevar-se, em torno de dezesseis semanas, porém sem alteração das lipoproteínas de baixa ou alta densidades.

A literatura ainda é controversa quanto à glicemia e insulinemia de ratos obesos por dieta, porém, vale ressaltar que tais estudos foram realizados com ratos machos. Em sua pesquisa, Borba e colaboradores (2011)[13] afirmam que os animais que receberam dieta hiperlipídica por oito semanas desenvolveram hiperglicemia, hipertrigliceridemia e aumento da fração lipoproteína de alta densidade do colesterol. Nascimento *et al.* (2008)[15] relata resultados semelhantes com quatorze semanas de dieta, com presença de resistência a insulina, hiperglicemia e hipertrigliceridemia.

A glicemia não alterou em alguns estudos que utilizaram dieta hiperlipídica por oito semanas em machos.[26,27] Já para os triglicerídeos, a grande maioria dos estudos obteve aumento no grupo obeso, resultados semelhantes ao desta pesquisa.[27] Ravagnani *et al.* (2012)[14] também encontraram maior triglicerídeo hepático após

indução da obesidade com dieta. Os resultados de colesterol ainda são conflitantes, esta análise parece depender mais dos ingredientes e do período de consumo. Bernardes *et al.* (2004)[28] identificaram hipercolesterolemia em ratos machos após oito semanas de dieta, enquanto Oliveira Júnior *et al*. (2009)[16] não identificaram esta alteração nos animais que consumiram dieta hiperlipídica por vinte semanas.

CONCLUSÃO

Apesar da gênese natural da obesidade em ratos ter causa genética, a administração de dieta hiperlipídica e hipercalórica é eficaz em induzir obesidade em ratas Wistar, mesmo o consumo alimentar sendo menor comparado ao controle. Com quatro semanas de consumo da dieta, a obesidade já é identificada, com excesso de gordura e alterações bioquímicas, porém, com a permanência da alta ingestão calórica, a gordura abdominal aumenta. A escolha do melhor período de imposição da dieta deve depender do objetivo do estudo. Assim, a melhor avaliação desta obesidade é a quantificação da gordura abdominal, porém, em se tratando de avaliação menos invasiva, a medida da circunferência abdominal se mostra a mais adequada. Para avaliação da glicemia ou triglicerídemia, a imposição da dieta por período curto é suficiente, já para análises excesso de colesterol sanguíneo é necessário maior tempo de consumo.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (*Facepe*) e ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

REFERÊNCIAS

1. Organização mundial de saúde. Estatísticas mundiais de saúde. Genebra, 2012. 180 p.
2. Coutinho JG, Gentil PC, Toral N. A desnutrição e obesidade no Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. Cad. Saúde Pública, 2008; 2: 332-340.
3. Pinho CPS, Diniz AS, Arruda IKG, Batista Filho M, Coelho PC, Sequeira LA et al. Prevalência e fatores associados à obesidade abdominal em indivíduos na faixa etária de 25 a 59 anos do Estado de Pernambuco, Brasil . Cad. Saúde pública, 2013; 29(2): 313-324.
4. Castanheira M, Olinto MTA, Gigante DP. Associação de variáveis sócio-demográficas e comportamentais com a gordura abdominal em adultos: estudo de base populacional no Sul do Brasil. Cad. Saúde Pública. 2003; 19(1): 55-65.
5. Bellaver L, Vital MA, Arruda AM, Bellaver C. Efeitos da dietilpropiona, energia da dieta e sexo sobre o ganho de peso corporal, peso dos órgãos e deposição de tecidos em ratos. Arq. Brás. End. e Met. 2001; 45(2): 167-712.

6. Greenberg AS, Obin M. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Am J Clin Nutr. 2006; 83: 461S-465S.
7. Wanderley EM, Ferreira VA. Obesidade: uma perspectiva plural. Ciênc Saúde Coletiva. 2010; 15(1): 185-194.
8. Diemen VV, Trindade EN, Trindade MRM. Experimental model to induce obesity in rats. Acta Cir. Brás. 2006; 21(6): 425-429.
9. Tschop M, Heiman ML. Rodent obesity models: an overview. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2001; 109(6): 307-319.
10. Rosini TC, Da Silva ERS, Moraes C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. Rev Assoc Med Bras. 2012; 58(3): 383-387.
11. Diniz YS, Burneiko RM, Seiva FR, Almeida FQ, Galhardi CM, Filho JL, Mani F et al. Diet compounds, glycemic index and obesity-related cardiac effects. Int J Cardiol. 2008; 124(1): 92-99.
12. Hermsdorff HHM, Monteiro JBR. Visceral, subcutaneous or intramuscular fat: where is the problem? Arq Bras Endocrinol Metabol. 2004; 48(6): 803-810.
13. Borba AJ, Rocha MGM, Silva MF, Tibúrcio DTS, Pereira SAL, Reis LC et al. Dieta hiperlipídico-proteica utilizada para emagrecimento induz obesidade em ratos. Rev. Nutr. Campinas. 2011; 24(4): 519-528.
14. RavagnaniFCP, RavagnaniCFC, Braga Neto JÁ, VoltareI FA, Zavala AAZ, Habitante CA, Inouye cm. Efeito de dietas hiperlipídicas com extrato De baru e chocolate sobre a área de adipócitos de ratos submetidos ao exercício físico. Rev bras med esporte. 2012; 18(3): 190-194.
15. Nascimento AF, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Luvizotto RAM, Nogueira CR et al. A Hypercaloric Pellet-Diet Cycle Induces Obesity and Co-Morbidities in Wistar Rats. Arq Bras Endocrinol Metab. 2008; 52(6): 968-974.
16. Oliveira Júnior AS, Okoshi K, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Campos DHS; Martinez PF et al. Perfil nutricional e cardiovascular de ratos normotensos e hipertensos sob dieta hiperlipídica Arq Bras Cardiol. 2009; 93(5): 487-494.
17. Silva, KMFS. Efeitos da obesidade sobre parâmetros imunológicos, hematológicos e bioquímicos em ratos endotoxêmicos [Mestrado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2010.
18. Zambon L, Duarte FO, Freitas LF, Scarmagnani FR, Damaso AR, Oliveira-Duarte AC *et al.* Efeitos de dois tipos de treinamento de natacao sobre a adiposidadee o perfil lipidico de ratos obesos exogenos. Rev Nutr. 2009; 22(5): 707-15.
19. Franco LDP, Campos JADB, Demonte A. Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. Rev. Nutr. Campinas. 2009; 22(3): 359-366.
20. Katan MB. Fatty acids and health: an update. Scand. J. Nutr.,v. 43, p. 26, 1999.
21. SANTOS, R.S., VIANNA, L.M. Dieta hipercalórica agrava a hipertensão arterial em ratos espontaneamente hipertensos. Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr. 2007; 32(1): 1-9.
22. Cao H, Gerhold K, Mayers JR, Wiest MM, Watkins SM, Hotamisligil GS. et al. Identification of a Lipokine, a Lipid Hormone Linking Adipose Tissue to Systemic Metabolism. Cell. 2008; 134(6): 933-944.
23. Duarte ACGO, Fonseca DF, Manzoni MSJ, Soave CF, Sene-Fiorese M, Damaso AR et al. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. Rev. Nutr. 2006; 19(3): 341-348.
24. Martin LJ, Mahaney MC, Almasy L, MacCluer JW, Blangero J,Jaquish CE *et al*. Leptin's sexual dimorphism results from genotype by sex interactions mediated by testosterone. Obes Res. 2002; 10(1): 14–21.

25. Vasques ACJ, SE, Rosado LEFPL, Franceschini SCC. Utilização de medidas antropométricas para a avaliação do acúmulo de gordura visceral. Revista de Nutrição Rev. Nutr., Campinas. 2010; 23(1): 107-118.
26. Estadella D, Oyama LM, Damaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM.Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercisedrats. Nutrition. 2004; 20(2): 218-24.
27. De Moraes C, Camargo EA, Antunes E, de Nucci G, Zanesco A. Reactivity ofmesenteric and aortic rings from trained rats fed with high caloric diet. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2007; 147(3): 788-92.
28. Bernardes D, Manzoni MSJ, De Souza CP, Tenório N, Dâmaso AR. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. Rev. Bras. Educ. Fís. Esp. 2004; 18(2): 191-200.

Efeito da obesidade em diferentes períodos de consumo de dieta hipercalórica: quantidade e função de macrófagos alveolares e perfil das células sanguíneas em ratas.

Effect of obesity on different periods of consumption of high-calorie diet: quantity and function of alveolar macrophages and profile of blood cells in female rats.

Palavras-chave: Obesidade. Dieta hiperlipídica. Ratas *Wistar*. Imunidade. Hematologia.

Título abreviado: Obesidade, sistema imune e células do sangue.
Seção de enquadramento do artigo na academia: Saúde.

ABSTRACT

The discovery of the endocrine function of adipose tissue obesity relates to various health disorders such as immunodeficiency and changes in blood cells. The aim of this study was to analyze in obese female rats the amount and function of phagocytosis in alveolar macrophage as well as the profile of blood cells. 64 female Wistar rats were induced obesity by *ad libitum* consumption of a high fat diet. After weaning, the animals were divided into control group (standard diet) and obese (fat diet). Each diet was consumed for four, eight, twelve and sixteen weeks. Blood was collected for count of blood cell and bronchoalveolar lavage to count total and differential of leukocyte and macrophage phagocytosis rate. The obese group had more alveolar leukocytes, but the percentage of macrophages was lower, which resulted in a lower rate of phagocytosis. Obesity changed the analysis of the red series at all times studied, since platelets were only affected when the imposition of the diet was given for eight weeks. The amount of total blood leukocytes was not altered. Obesity in female rats can alter the quantity and quality of macrophages and the profile of the red blood cells.

INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada uma das doenças não transmissíveis que mais cresce em todo o mundo. Observa-se que acomete principalmente indivíduos do gênero feminino, de classe social menos favorecida e sua incidência parece aumentar com a idade, especialmente em mulheres (Buzzachera *et al.* 2008; Ferreira *et al*. 2010).

Define-se sobrepeso e obesidade como anormal ou excessiva acumulação de gordura que apresenta um risco para a saúde. O excesso de gordura, além de favorecer o surgimento de enfermidades potencialmente letais a exemplo de diabetes mellitus, hipertensão, dislipidemias, certos tipos de câncer, é relacionada também à ocorrência de eventos cardiovasculares (Cavalcanti *et al.* 2009).

O tecido adiposo não é um tecido inerte e vem sendo considerado um órgão com funções metabólicas (Prado *et al*. 2009). A partir de peptídeos bioativos, conhecidos como adipocinas, o tecido adiposo é integralmente envolvido na coordenação de uma variedade de processos biológicos, incluindo o metabolismo energético, função neuroendócrina e função imunológica (*Rocha et al. 2013). Alterações em células do sangue também têm sido relatadas após casos de sobrepeso e obesidade, tanto em sua formação (hematopoese), quanto em sua distribuição*. Além do prejuízo à função básica destas células, como transporte de gases, defesa imunológica e coagulação, é descrita a participação destas em casos de vaso-oclusão em obesos (Guerra 2013). As funções que têm relação com a obesidade são enfatizadas pelas consequências adversas metabólicas de ambos: excesso e deficiência de tecido adiposo (Kershaw e Flier 2004).

Esta preocupação torna-se maior entre as mulheres, pois além destas apresentarem as mais altas prevalências de obesidade, a concentração sérica de algumas adipocinas é duas a três vezes mais elevada no sexo feminino, como é o caso da leptina e da adiponectina (Greenberg e Obin 2006). Outro ponto é a interferência dos hormônios sexuais, pensa-se em efeitos metabólicos dos estrógenos, como acontece possivelmente para a proteção de doenças cardiovasculares (Gravina *et al*. 2010). Sendo assim, as mulheres podem apresentar mais ou menos predisposição aos processos adversos gerados pela obesidade, como acontece com a maior facilidade para as doenças autoimunes *(*Barbosa *et al*. 2012).

A literatura científica possui variados resultados relacionados a experiências nutricionais em ratos, pois a grande similaridade e homologia entre os genomas de roedores e seres humanos tornam os modelos animais uma grande ferramenta para estudar as condições que afetam os indivíduos. Neste sentido, a administração de dieta hipercalórica é o modelo mais simples para indução da obesidade em ratos e

possivelmente um dos que mais se assemelha à realidade da obesidade em seres humanos (Nascimento *et al.* 2008).

Além disso, os estudos apontam que a alimentação hiperlipídica é um componente importante na etiologia da obesidade em animais, já que dietas hiperlipídicas comprovadamente levaram ao excesso de gordura corporal. Desta forma, os estudos com o objetivo de avaliar o metabolismo em diferentes momentos do processo de obesidade experimental contribuem para a investigação dos fatores metabólicos afetados pelo excesso de gordura (Rosini e Da Silva 2012).

Conhecendo-se as diferenças hormonais e metabólicas entre os gêneros, é plausível supor que também possa haver distinções no comportamento do sistema imune e células sanguíneas. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar em ratas o efeito da obesidade, por diferentes períodos de consumo de dieta hipercalórica, sobre a quantidade e função de macrófagos alveolares e no perfil das células do sangue periférico.

MÉTODOS

Foram utilizadas 64 ratas fêmeas, albinas, da linhagem *Wistar*, provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco/Brasil. Os animais foram mantidos no biotério em temperatura de 23 $\pm$ 2^0C, sob ciclo claro/escuro de 12 horas, recebendo ração e água a vontade. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco/Brasil (processo nº 26076.024365/2010-21).

Ratas recém-desmamadas foram divididas inicialmente em dois grupos segundo a ração a ser consumida. O grupo controle (GC, n=32) foi alimentado com dieta padrão de manutenção do biotério (Labina-Purina do Brasil S/A - 275 kcal/100g); o grupo obeso (GO, n=32) foi alimentado com dieta hiperlipídica e hipercalórica (481 kcal/100g). Cada grupo de estudo foi subdividido em diferentes tempos de consumo das dietas: 04, 08, 12 e 16 semanas.

A dieta utilizada para induzir a obesidade consiste em uma mistura hiperlipídica (normoprotéica e hipercalórica) previamente descrita e utilizada por Duarte *et al.* 2006. É composta por ração comercial LABINA®, amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito de amido de milho, na proporção 3:2:2:1, respectivamente. Destes constituintes, a ração, o amendoim e o biscoito são moídos em trituradores elétricos, já o chocolate é derretido em banho Maria. Após esta primeira fase, todos os ingredientes são misturados até formarem uma massa, que é posteriormente aquecida em estufa, cortada e oferecida na forma de péletes. A dieta foi preparada semanalmente e armazenada em congelador.

Análise das células do sangue periférico

O perfil das células sanguíneas foi analisado através de hemograma. Coletou-se alíquota de sangue (0,5mL) da cauda dos animais em tubo com anticoagulante EDTA na proporção 1:9. O hemograma foi realizado por método automatizado (ABX Micros 60, Horiba). Para análise e confirmação dos resultados emitidos pelo equipamento utilizou-se a técnica do estiraço sanguíneo com lâminas coradas com o *kit* Panótico Rápido (LB-Laborclin). Após preparação, foram examinadas ao microscópio óptico com objetiva de 100x sob imersão.

Lavado broncoalveolar

O lavado broncoalveolar (LBA) foi obtido de acordo com a técnica utilizada por De Castro *et al*. 1995. Realizou-se a cirurgia de traqueostomia, com o animal anestesiado com uma mistura dos anestésicos Quetamina 10% e Xilasina 2%, via intraperitonial 0,1 ml/12 g. O lavado broncoalveolar foi coletado após a introdução de salina a 0,9% através de uma cânula plástica inserida em orifício entre dois anéis traqueais e, em seguida, várias alíquotas de 3mL do lavado foram aspiradas, coletadas e adicionadas em tubos estéreis cônicos de polipropileno de 50mL (Falcon, Sigma). Recuperou-se, aproximadamente, 30mL de LBA de cada animal.

Contagem dos leucócitos do lavado broncoalveolar

A contagem total das células foi realizada a partir de uma amostra do LBA, diluído de 1:10, em corante azul de *trypan*. A contagem diferencial foi realizada a partir de lâminas citocentrifugadas a 800 rpm/10min (CytoproTM- *Cytocentrifuge Wescor*), coradas com o *kit* Panótico Rápido (LB-Laborclin) e lidas ao microscópio óptico com objetiva de 100x sob imersão. A partir dos dados obtidos foi calculado os percentual de macrófagos.

Cultura de macrófagos alveolares

Centrifugaram-se amostras do LBA a 1500 rpm durante 15 minutos. O precipitado que corresponde às células foi ressuspendido em RPMI 1640 (Gibco-Invitrogen Corporation) contendo 3% de soro fetal bovino (Gibco-Invitrogen Corporation) e antibiótico (penicilina 100U/mL e estreptomicina 100µg/mL; anfotericina B 0.25 µg/ml) (Sigma). As células foram transferidas para placas de cultura de 6 poços com 35mm de diâmetro cada (Falcon), nas quais foram dispensados 2mL da suspensão em uma proporção de 10^6 células/mL de RPMI 1640 em cada poço. Após 1h na incubadora a 37°C e 5% CO2, desprezou-se o sobrenadante com as células não

aderentes e adicionou-se 2mL de RPMI, deixando-se as placas por mais 1h em incubadora para estabilização das células.

Taxa de fagocitose

Para se avaliar a taxa de fagocitose, foram utilizados fungos S*accharomyces sp.* Os fungos foram lavados três vezes com solução tampão de fosfato a 0,01M; contados 10^7 células em 200 µl de tampão de fosfato. Em seguida, 200 µl da suspensão com 10^7 fungos foram misturados em 800 µl da suspensão contendo 10^6 macrófagos em meio RPMI 1640. As células (macrófagos e fungos) foram então distribuídas em lâminas de microscopia óptica e incubadas a 37ºC, em câmara com atmosfera úmida, durante o período de 1 hora. Em seguida, as lâminas são lavadas com água destilada, secadas à temperatura ambiente e coloradas com kit Panótico Rápido (LB-Laborclin). A leitura foi feita em microscópio óptico, com aumento de 1.000 vezes. A taxa de fagocitose foi obtida em percentual, através da contagem de macrófagos que fagocitaram o fungo, em um total de 100 células.

Análise estatística

Para avaliação de diferença estatística entre os grupos, foi utilizado o teste *t de Student* para os dados paramétricos e o teste de *Mann-Whytney* para os dados não paramétricos. Os testes foram aplicados considerando-se um nível de significância de 5%. Os resultados foram representados em média ± desvio-padrão.

RESULTADOS

Análise das células do sangue periférico

Os dados da contagem de leucócitos no sangue periférico (Figura 1) indicam que a obesidade não alterou o número de leucócitos totais, quando comparados os grupos obeso e controle após quatro, oito, doze ou dezesseis semanas de consumo das dietas. No entanto, ratas obesas apresentaram alteração na contagem de eritrócitos e no hematócrito em todos os períodos de consumo da dieta hipercalórica. Após quatro semanas de dieta hipercalórica foi identificada uma menor quantidade de hemácias e menor hematócrito no grupo obeso. Com a continuidade da imposição da dieta, a contagem de hemácias e do hematócrito apresentaram-se maiores no grupo obeso. Ainda em relação às hemácias, os resultados mostram que o teor de hemoglobina dos obesos apenas se mostrou alterado em um único período estudado. Após oito semanas de consumo da dieta hiperlipídica o grupo obeso apresentou maior teor de hemoglobina. (Tabela 1). Os dados da Figura 2 ilustram que a contagem de plaquetas do sangue apenas sofreu interferência quando a obesidade foi imposta por

um período de oito semanas de consumo de dieta rica em lipídeos. Neste caso, as plaquetas encontraram-se em maior quantidade no grupo obeso comparado ao controle.

Análise da quantidade de leucócitos do lavado broncoalveolar

Os dados da contagem de leucócitos no LBA (Figura 3) indicam que a dieta hiperlipídica consumida por quatro, oito, doze ou dezesseis semanas ocasionou aumento nos valores de leucócitos em ratas obesas, quando comparadas às eutróficas. Após identificação das células (Figura 4) foi evidenciado que as ratas do grupo obeso apresentaram menor proporção de macrófagos no LBA em relação ao grupo controle, em todos os períodos avaliados. Além disso, foram observadas diferenças quanto ao percentual de macrófagos no grupo obeso.

Análise da taxa de fagocitose de macrófagos alveolares

No estudo da função dos macrófagos alveolares (Figura 5), os dados da taxa de fagocitose destas células indicam que nas ratas obesas está prejudicada. A taxa de fagocitose apresentou-se menor nos animais que receberam dieta hiperlipídica por quatro, oito, doze ou dezesseis semanas, em relação aos seus controles.

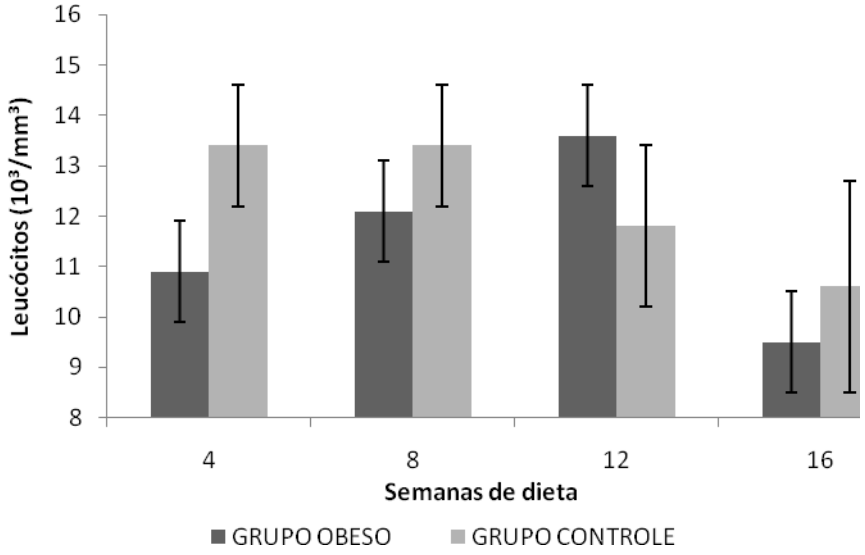


Figura 1. Média ± desvio padrão da quantidade de leucócitos do sangue periférico de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014.
($p<0,05$); cada grupo com n=08.

Tabela 1. Média ± desvio padrão da série vermelha do sangue periférico de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014.

GRUPOS Dieta/ Semanas	HEMÁCIAS (milhões/mm³)		HCT (%)		HB (g/dL)	
	x	DP	x	DP	x	DP
Ob/ 04	4,6* (p=0,036)	0,7	27,9* (p=0,036)	4,4	13,8	1,2
Con/ 04	5,7	0,1	36,4	0,5	13,8	0,6
Ob/ 08	4,5* (p=0,001)	0,2	25,8* (p=0,001)	1,8	15,2* (p=0,017)	0,2
Con/ 08	3,4	0,2	19,6	2,4	13,5	1,2
Ob/ 12	4,1* (p=0,005)	0,3	24,3* (p=0,006)	1,5	14,6	0,2
Con/ 12	3,4	0,2	20,2	1,7	15,3	0,4
Ob/ 16	5,0* (p=0,003)	0,5	29,1* (p=0,007)	2,8	14,7	0,9
Con/ 16	3,4	0,5	18,8	4,3	15	0,4

Ob - obeso; Con - controle; HCT – hematócrito; HB – hemoglobina; x - média; DP - desvio-padrão; * - diferença estatística; (p) - significância; (p<0,05); cada grupo com n=08.

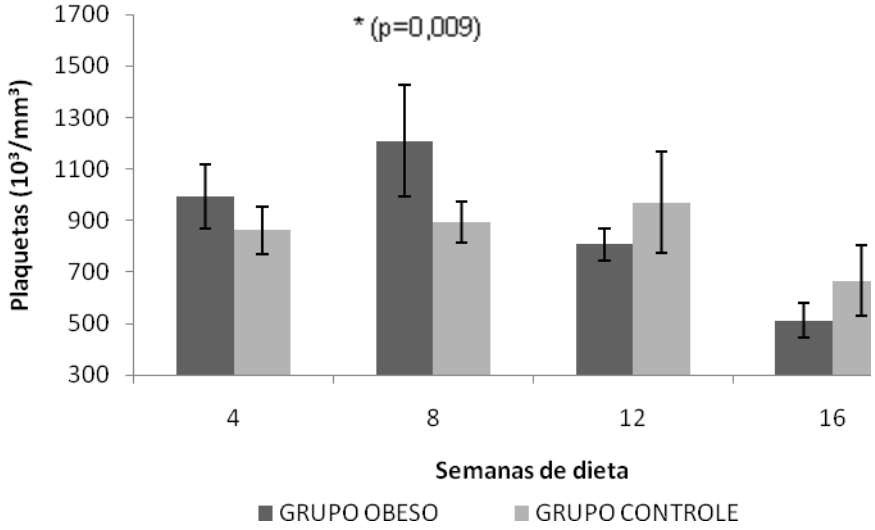


Figura 2. Média ± desvio padrão da quantidade de plaquetas do sangue periférico de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014.
* - diferença estatística; (p) – significância; (p<0,05); cada grupo com n=08.

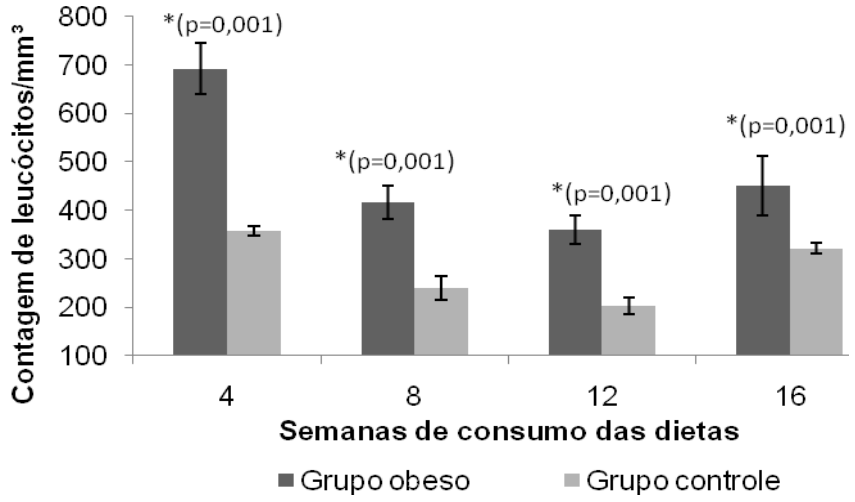


Figura 3. Média ± desvio padrão da quantidade de leucócitos do lavado broncoalveolar de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014.

* - diferença estatística; (p) – significância; (p<0,05); cada grupo com n=08.

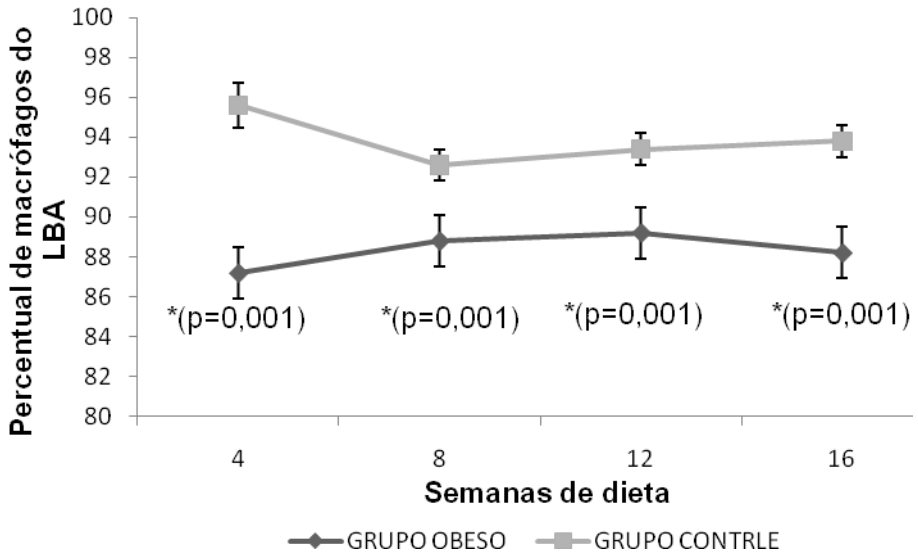


Figura 4. Média ± desvio padrão do percentual de macrófagos do LBA de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014.

LBA - lavado roncoalveolar; * - diferença estatística; (p) - significância; (p<0,05); cada grupo com n=08.

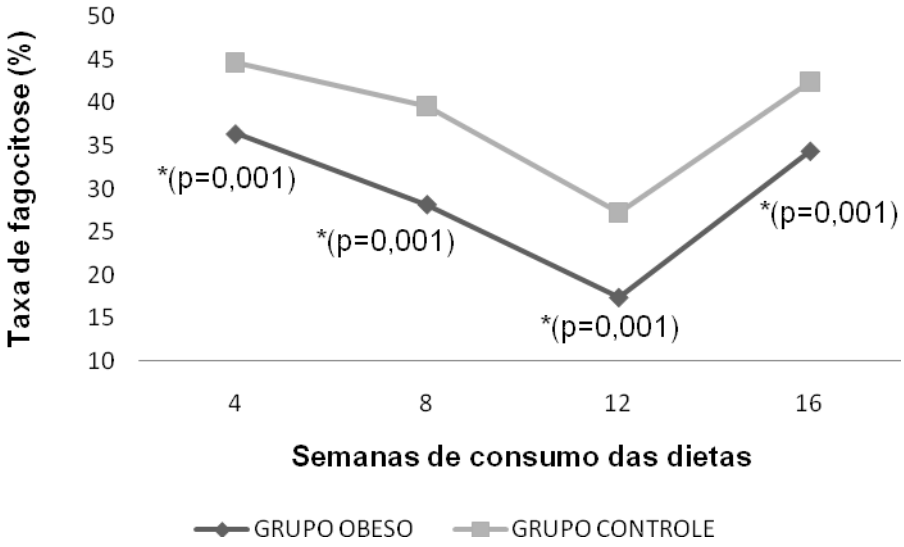


Figura 5. Média ± desvio padrão da taxa de fagocitose de macrófagos do lavado broncoalveolar de ratas *Wistar* obesas. Recife/PE, 2014.

* - diferença estatística; (p) – significância; (p<0,05); cada grupo com n=08.

DISCUSSÃO

Atualmente o tecido adiposo é um dos principais focos das pesquisas em obesidade (Trayhurn 2007). Tal fato se deu pela descoberta da propriedade do tecido adiposo branco secretar substancias com importantes efeitos biológicos. Desde então, um novo conceito sobre a função biológica desse tecido vem amadurecendo, considerando-o um órgão dinâmico envolvido em uma variada gama de processos metabólicos e fisiológicos (Prado 2009). Em conjunto, estas alterações parecem ser responsáveis pelo metabolismo anormal muitas vezes visto na obesidade central (Björntorp e Rosmond 2000).

No presente estudo, dentre os parâmetros estudados referentes às células hematológicas, a série vermelha foi a que mais apresentou alterações. Já em relação às plaquetas, a interferência da dieta hiperlipídica em um único período de consumo pode demonstrar uma tendência específica destas células a depender da quantidade de tecido adiposo ou de fase da vida do animal.

Silva (2010) ao induzir obesidade em ratos *Wistar* machos através de consumo de dieta hiperlipídica por dezoito semanas também identificou alteração das hemácias, porém com comportamento diferente nos machos. Em seu estudo, identificou que hemácias, hematócrito e hemoglobina estavam aumentados nos animais machos

obesos, enquanto que as fêmeas, no presente estudo, mostraram uma tendência a redução com o tempo. Ainda segundo Silva, o quantitativo de plaquetas e leucócitos não foi alterado nos machos obesos. Tais resultados diferem dos encontrados para plaquetas nas fêmeas do presente estudo, mostrando que os fatores sexo e período da análise podem ser interferentes. As ratas do grupo obeso que apresentaram aumento de plaquetas receberam a dieta por oito semanas, período que corresponde a em média 80 dias de vida, fase que em ratos relaciona-se entre a puberdade e o início da maturidade sexual. (Andreollo *et al.* 2012)

Em pesquisas com humanos, Guerra (2013) demonstrou em adolescentes que houve diferença entre gêneros para contagem de células vermelhas, hemoglobinas e plaquetas e que foram encontradas correlações positivas para contagem de células vermelhas e hemoglobinas com a circunferência abdominal.

Em outro estudo com adolescentes, as contagens de glóbulos brancos médios do sangue aumentaram proporcionalmente com componentes da síndrome metabólica, tanto em meninos quanto em meninas. O autor propõe que contagem de leucócitos elevada pode ser um marcador substituto para a síndrome metabólica (Lee *et al.* 2010). Porém, em estudos de Foschini *et al.* (2008), também com o mesmo público alvo, não houve diferença entre o grupo obeso e o não-obeso na quantidade de leucócitos, além disso, as plaquetas apresentaram-se em maiores quantidade.

Kinik *et al.* (2005), ao estudar a relação entre leptina e hemograma de crianças pré-púberes obesas identificaram que, nos grupos obesos e controle os níveis de leptina das meninas foram significativamente maiores do que os meninos. No entanto, este estudo não identificou correlação entre parâmetros do hemograma com a leptina ou índice de massa corporal.

Abu-Samak *et al.* (2011), mostraram que mudanças nas variáveis lipídicas e alguns parâmetros hematológicos podem aumentar a viscosidade do sangue como um passo na patogênese da aterosclerose em jovens. Já Tungtrongchitr *et al.* (2000), diagnosticaram anemia em 18,7% das mulheres, usando hemoglobina como indicador, e encontraram associações negativas entre, hemoglobina, hematócrito e leptina sérica em indivíduos com sobrepeso e obesidade.

Apesar dos diferentes resultados apresentados pelos estudos, as linhas de evidências apoiam que existe um elo entre tecido adiposo e células do sangue, propiciando o aparecimento de patologias, sobretudo em mulheres.

Alteração em células imunológicas também tem sido relatada como consequência do excesso de gordura (Martí *et al.* 2001). Estudo com mulheres portadoras do vírus HIV, com diferentes pesos corporais, apresentou que as

associações entre peso e diminuição das contagens de células imunes ficaram mais fortes com o aumento de peso corporal (Womack *et al.* 2007).

Hoje se sabe que o sistema imune é influenciado pelo balanço energético para exercer suas funções fisiológicas. Atualmente, uma importante via de ligação tem sido identificada entre esse sistema e o metabolismo, inclusive, com a obesidade predispondo o individuo ao desenvolvimento de vários distúrbios tais como, algumas doenças imunomediadas. (Tilg e Moschen 2006).

O presente estudo corrobora com a ligação negativa entre sistema imune e obesidade. As ratas obesas tiveram seus leucócitos alveolares em maior quantidade, porém com prejuízo ao percentual de macrófagos. Além da interferência quantitativa, os animais obesos também apresentaram prejuízos na taxa de fagocitose.

De acordo com Porto (2011), ratos machos obesos apresentaram deficiência na fagocitose quando comparados aos controles normonutridos. Porém, não foram evidenciadas alterações na quantidade de leucócitos alveolares dos machos obesos, o que pode indicar que os machos têm uma alteração imune mais limitada.

Vários estudos corroboram que os processos imunológicos envolvidos na defesa do organismo são afetados pelo estado nutricional. Estudos clínicos e epidemiológicos mostram que a incidência e a gravidade de doenças infecciosas são maiores em indivíduos obesos quando comparado pessoas magras (Stallone 1994). Ainda em 1980 Chandra e Kutty constataram que 38% das crianças e adolescentes obesos apresentaram um comprometimento da resposta imune mediada por células, tais como atraso na hipersensibilidade cutânea e uma redução na capacidade de leucócitos polimorfonucleares em matar bactérias intracelulares.

Sola et al. (2009) identificaram em pacientes obesos níveis mais elevados de leucócitos, após perda de peso moderada nenhuma mudança foi observada, indicando uma alteração de difícil reversão.

CONCLUSÃO

A partir das pesquisas existentes, os estudos apontam alterações nos padrões hematológicos em casos de obesidade e que o sexo é fator participativo neste contexto, porém os resultados ainda são conflitantes na literatura. As alterações imunológicas relacionadas ao excesso de tecido adiposo são cada vez mais estabelecidas, porém os fatores que rodeiam este processo ainda precisam ser totalmente fundamentados, dentre eles a predisposição das fêmeas. São necessárias pesquisas adicionais para um melhor esclarecimento dos processos que medeiam às alterações imunológicas e hematológicas relacionadas à obesidade, sobretudo no que

concerne a importância do nível da obesidade, em que estágio da vida incide e os fatores relacionados ao sexo.

RESUMO

A obesidade é considerada uma síndrome mundial pela alta prevalência e patologias associadas. A descoberta da função endócrina do tecido adiposo relaciona obesidade a vários distúrbios da saúde, como a imunodeficiência e alteração nas células sanguíneas. O objetivo desta pesquisa foi analisar em modelo de ratas obesas a quantidade e a função de fagocitose de macrófagos alveolares, bem como, o perfil das células sanguíneas. 64 ratas *Wistar* foram induzidas à obesidade pelo consumo *ad libitum* de dieta hiperlipídica. Após o desmame, os animais foram divididos em dois grupos: controle (dieta padrão) e obeso (dieta hiperlipídica). Cada dieta foi consumida por quatro, oito, doze e dezesseis semanas. Após cada período da dieta, foi coletado sangue para hemograma e lavado broncoalveolar para contagem total e diferencial de leucócitos e bem como para avaliar a taxa de fagocitose dos macrófagos. O grupo obeso apresentou mais leucócitos alveolares, porém o percentual de macrófagos foi menor, o que refletiu em menor taxa de fagocitose. A obesidade alterou as análises da série vermelha em todos os tempos estudados. As plaquetas só foram afetadas quando a imposição da dieta se deu por oito semanas e a quantidade dos leucócitos totais do sangue não foi alterada pela obesidade, em nenhum dos períodos estudados. A obesidade em ratas *Wistar* é capaz de alterar a quantidade e a aspectos funcionais de macrófagos e as hemácias, são as células sanguíneas que mais sofrem interferência do excesso de tecido adiposo em ratas.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (*Facepe*) e ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

REFERÊNCIAS

ABU-SAMAK M, YOUSEF AM, AL-JARIE A, AL-MATUBSI HY, ABU-ZAITON A, AL-QURAAN M, ET AL. 2011. Lipid and hematological parameters in hyperleptinemic healthy Arab male youth in Jordan. Pak J Biol Sci. 14:344-350.

ANDREOLLO NA, SANTOS EF, ARAÚJO MR, LOPES LR. 2012. Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? Arq Bras Cir Dig. 25:49-51.

BARBOSA VS, REGO J, SILVA N. 2012. A. Possível papel das adipocinas no lúpus eritematoso sistêmico e na artrite reumatóide. Rev Bras Reumatol 52: 271-287.

BJÖRNTORP P, ROSMOND R. 2000. Obesity and cortisol. Nutrition. 16: 924-936.

BUZZACHERA CF et al. 2008. Prevalência de sobrepeso e obesidade geral e central em mulheres idosas da cidade de Curitiba, Paraná. Rev Nutr. 21:525-533.

CAVALCANTI CL et al. 2010. Envelhecimento e Obesidade: um Grande Desafio no Século XXI. Rev Bras Ciênc da Saúd. 14:87-92.

CHANDRA RK, KUTTY KM. 1980. Immunocompetence in obesity. Acta Paediatr. Scand. 69:25–30.

DE CASTRO CM, BUREAU MF, NAHORI MA, DUMAREY CH, VARGAFTIG BB, BACHELET M. Modulation by dexamethasone of phospholipase A2 activities in endotoxemic guinea pigs. 1995. J Appl Physiol. 79: 1271-1277.

DUARTE ACGO, FONSECA DF, MANZONI MSJ, SOAVE CF, SENE-FIORESE M, DAMASO AR, CHEIK NC. 2006. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. Ver. Nutr. 19: 341-348.

FERREIRA VA et al. 2010. Desigualdade, pobreza e obesidade. Ciênc Saúde Coletiva. 15:1423-1432.

FOSCHINI D et al. 2008. Platelet and leptin in obese adolescents. J Pediatr (Rio J). 84: 516-521.

GRAVINA CF et al. 2010. Sociedade Brasileira de Cardiologia. II Diretrizes Brasileiras em Cardiogeriatria. Arq Bras Cardiol. 95:111-112.

GREENBERG AS, OBIN M. 2006. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Am J Clin Nutr. 83:461S-465S.

GUERRA RLF. 2013. Relação entre perfil lipídico e hematológico com índices de adiposidade corporal em adolescentes obesos. Rev Bras Hematol Hemoter. 35: 153-162.

KERSHAW EE, FLIER ES. 2004. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. J. Clin. Endocrinol. Metab. 89: 2548-2556.

KINIK ST, OZBEK N, YUCEL M, HABERAL A, CETINTAS S. 2005. Correlations among serum leptin levels, complete blood count parameters and peripheral CD34(+) cell count in prepubertal obese children. Ann Hematol 84: 605-608.

LEE YJ, SHIN YH, KIM JK, SHIM JY, KANG DR, LEE HR FONTE. 2010 Metabolic syndrome and its association with white blood cell count in children and adolescents in Korea: the 2005 Korean National Health and Nutrition Examination Survey. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20: 165-172.

MARTÍ A, MARCOS A, MARTINEZ JA. 2001. Obesity and immune function relationships. Obes. Reviews 2: 131-140.

NASCIMENTO AF et al. 2008. A Hypercaloric Pellet-Diet Cycle Induces Obesity and Co-Morbidities in Wistar Rats. Arq Bras Endocrinol Metab. 52: 968-974.

PORTO SMMS. 2011. Efeito do treinamento físico moderado em parâmetros metabólicos e imunológicos de ratos adultos obesos [Tese]. Recife. Universidade Federal de Pernambuco.

PRADO WL et al. 2009. Obesidade e Adipocinas Inflamatórias: Implicações Práticas para a Prescrição de Exercício Rev Bras Med Esporte 15: 378-3839.

ROCHA FL et al. 2013. Correlação entre indicadores de obesidade abdominal e lipídeos séricos em idosos. Rev assoc med bras. 59: 48-55.

ROSINI TC, DA SILVA ERS, MORAES C. 2012. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. Rev Assoc Med Bras, 58: 383-387.

SILVA KMF. 2010. Efeitos da obesidade sobre parâmetros imunológicos, hematológicos e bioquímicos em ratos endotoxêmicos [Dissertação]. Recife. Universidade Federal de Pernambuco.

SOLA E, JOVER A, LOPEZ-RUIZ A, JARABO M, VAYA A, MORILLAS C, GOMEZ-BALAGUER M, HERNANDEZ-MIJARES A. 2009. Parameters of inflammation in morbid obesity: lack of effect of moderate weight loss. Obes Surg. 19: 571-576.

STALLONE DD. 1994. The influence of obesity and its treatment on the immune system. Nutr. Rev. 52: 37-50.

TILG H, MOSCHEN AR. 2006. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. Nat Rev Immunol 6: 772-783.

TRAYHURN P. Adipocyte biology. 2007, Obes Rev. 8: 41-44.

TUNGTRONGCHITR R et al. 2000. Leptin concentration in relation to body mass index (BMI) and hematological measurements in Thai obese and overweight subjects. Southeast Asian J Trop Med Public Health 31: 787-794.

WOMACK J, TIEN PC, FELDMAN J, SHIN JH, FENNIE K, ANASTOS K, COHEN MH, BACON MC, MINKOFF H. 2007. Obesity and immune cell counts in women. Metab. Clin. and Expe. 56: 998-1004.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A obesidade é uma síndrome mundial de consequências alarmantes. Atualmente sabe-se que há ligação entre o tecido adiposo e vários sistemas orgânicos, o que preocupa ainda mais o excesso de gordura corporal. Vários são os fatores causais para a obesidade, cada vez mais o sexo feminino tem sido considerado como um dos facilitadores para este quadro. As pesquisas científicas sobre as comorbidadades afetadas pelo excesso de tecido adiposo são facilitadas pela utilização de modelos animais, sobretudo utilizando-se dietas hiperlipídicas para indução da obesidade.

A indução da obesidade em ratos com estas dietas têm sido considerados úteis pela literatura e a presente pesquisa confirma este pensamento. Considera-se pelos resultados obtidos que a dieta hipercalórica, inclusive, promove obesidade pelo consumo por ratos em períodos mais curtos do que os praticados pela maioria dos pesquisadores. Com apenas quatro semanas de consumo, os ratos já são considerados obesos. Detalha-se que estes resultados foram obtidos em ratas fêmeas, o que pode não ser totalmente repassado para machos. Em humanos existe uma gama de medidas antropométricas que auxiliam no diagnóstico da obesidade. Contudo, este estudo mostra que, em geral, a antropometria não é um bom indicador de obesidade em ratas. A única medida que refletiu o excesso de gordura em todos os períodos de consumo da dieta hiperlipídica foi a circunferência abdominal. Ao contrário das medidas corporais, os níveis sanguíneos de glicose e triglicerídeos traduziram bem a obesidade imposta em ratas, desde quatro semanas de consumo da dieta hiperlipídica.

No estudo da interferência da obesidade sobre o sistema imunológico, ratifica-se a ideia de que há uma ligação negativa entre excesso de gordura e este sistema. A utilização de ratas como modelos para o estudo desta relação se mostrou eficaz com o consumo da dieta hipercalórica por apenas quatro semanas. Situação semelhante foi vista com as células sanguíneas. O estudo identificou alteração precoce no perfil do hemograma, principalmente no que se refere às hemácias, porém a falta de estudos para discussão dos resultados é fator limitante. A transição nutricional impulsionou o estudo com obesidade, porém, o estabelecimento das consequências ligadas ao sistema imunológico é discordante e, em relação às células do sangue, está em fase inicial. No que se refere a análise desta relação entre os sexos, estudos com fêmeas são escassos.

Fica clara a necessidade de realização de mais pesquisas que objetivem esclarecer as comorbidades associadas à obesidade. O esclarecimento de que há uma ligação entre o tecido adiposo e os sistemas orgânicos facilitou o entendimento das patologias associadas, mas o detalhamento de processos específicos é necessário. O conhecimento destes processos aliado à ciência de acometimento diferenciado entre homens e mulheres pode auxiliar os programas de saúde pública tanto na profilaxia quanto no tratamento.

REFERÊNCIAS

ALVEZ, M. N. R. Os efeitos da obesidade na resposta imune. Rev Bras Nutr Clin, v. 21, n. 4, p. 316-319, 2006.

BARBOSA, V. S.; REGO J.; SILVA N. A. Possível papel das adipocinas no lúpus eritematoso sistêmico e na artrite reumatóide Rev Bras Reumatol, v. 52, n. 2, p. 271-287, 2012.

BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. Cad. Saúde Pública, v.19, p. 181-191, 2003.

BENATTI, F. B.; LANCHA JR, A. H. Leptina e exercício físico aeróbio: implicações da adiposidade corporal e insulina. Rev Bras Med Esporte; v. 13, n. 4, p. 263-269, 2007.

BERGMAN, R. N. et al. Why visceral fat is bad: mechanisms of the metabolic syndrome. Obesity. V. 14, n. 1, p, 16-19, 2006.

BLANCO-QUIROS, A. et al. Influence of leptin levels and body weight in survival of children with sepsis. Acta Paediatr, v. 91, n. 6, p. 626–631, 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Cadernos de Atenção Básica - n.º 12 Série A. Normas e Manuais Técnicos. Obesidade. Brasília, 2006. 110 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília, 2012. 130 p.

BUZZACHERA, C. F. et al. Prevalência de sobrepeso e obesidade geral e central em mulheres idosas da cidade de Curitiba, Paraná. Rev Nutr, v. 21, n. 5, p. 525-533, 2008.

CAO, H. et al. Identification of a Lipokine, a Lipid Hormone Linking Adipose Tissue to Systemic Metabolism. Cell, v. 134, n. 6, p. 933-944, 2008.

CASADO L. VIANA LM; THULER LCS. Fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: uma revisão sistemática. Revista Brasileira de Cancerologia, v. 55, n. 4, p. 379-388, 2009.

CASTANHEIRA, M.; OLINTO, M. T. A.; GIGANTE, D. P. Associação de variáveis sócio-demográficas e comportamentais com a gordura abdominal em adultos: estudo de base populacional no Sul do Brasil. Cad. Saúde Pública, v. 19, n. 1, p 55-65, 2003.

CAVALCANTI C. L. et al. Envelhecimento e Obesidade: um Grande Desafio no Século XXI. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v. 14, n 2, p. 87-92, 2010.

CHUANG, J. C. et al. Ghrelin mediates stress-induced food-reward behavior in mice. J Clin Invest., v. 121, n. 7, p. 2684-2692, 2011.

CONSIDINE, R. V. et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl J Med., v. 334, n. 5, p. 292-295, 1996.

COUTINHO, J. G.; GENTIL, P. C.; TORAL, N. A desnutrição e obesidade no Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. Cad. Saúde Pública, v. 2, p. 332-340, 2008.

DA SILVA, A. S. et al.Exercise intensity, inflammatory signaling and insulin resistance in obese rats.Med Sci Sports Exerc., v. 42, n. 12, p. 2180-2188, 2010.

DIEMEN, V.V., TRINDADE, E.N., TRINDADE, M.R.M. Experimental model to induce obesity in rats. Acta. Cir. Brás., v. 21, n.6, p. 425-29, 2006.

ESTADELLA, D. Dieta palatável hiperlipídica modifica o metabolismo cerebral e do tecido adiposo de ratos, dependendo da idade e do tempo de tratamento. São Paulo; s.n; 2005. [112] p. Apresentada a Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Curso de Nutrição para obtenção do grau de Doutor

ESTADELLA, D. et al. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. Basic nutri invest, v. 20, p. 218-24, 2004.

FERN´ANDEZ-RIEJOS, P. et al. Role of Leptin in the Activation of Immune Cells. Publishing Corporation Mediators of Inflammation, 2010.

FERREIRA, V. A. et al. Desigualdade, pobreza e obesidade. Ciênc Saúde Coletiva, v. 15, n. 1, p. 1423-1432, 2010.

FERREIRA, V. A.; MAGALHÃES, R. Obesidade e pobreza: o aparente paradoxo. Um estudo com mulheres da Favela da Rocinha, Rio de Janeiro, Brasil. Cad Saude Publica, v. 21, n. 6, p. 1792-1800, 2005

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. Arq Bras Endocrinol Metab, v. 50, n. 2, p. 216-229, 2006.

FRANCO, L.D.P., CAMPOS, J.A.D.B., DEMONTE, A. Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. Rev. Nutr., Campinas, v. 22, n. 3, p. 359-366, 2009.

FRAYLING, T. M. Are the causes of obesity primarily environmental? No. BMJ, v. 3450, p. 1136-1144, 2012.

FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. Nature, v. 395, n. 6704, p. 763–70, 1998.

GRAVINA, C. F. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. II Diretrizes Brasileiras em Cardiogeriatria. Arq Bras Cardiol, v. 95, n. 2, p. 111-112, 2010.

GREENBERG, A. S.; OBIN, M. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Am J Clin Nutr,v. 83, p. 461S-465S, 2006.

GUIMARÃES, D. E. D. et al. Adipocitocinas: uma nova visao do tecido adiposo. Rev Nutr, v. 20, n. 5, p. 549-559, 2007.

HERMSDORFF, H. H. M.; MONTEIRO, J. B. R. Visceral, subcutaneous or intramuscular fat: where is the problem? Arq Bras Endocrinol Metabol.; v. 48, n. 6, p. 803-810, 2004.

HESLEHURST, N. et al. A nationally representative study of maternal obesity in England, UK: trends in incidence and demographic inequalities in 619 323 births, 1989–2007. Int J Obes., v. 3, p. 420–428, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa de orçamento familiar 2008-2009: Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil. Brasília, 2010. 130 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Rio de Janeiro,2004.

JANSSEN, I. et al. Body mass index and waist circumference contribute to the prediction of non abdominal, abdominal subcutaneous and visceral fat. Am J Clin Nutr., v. 75, n. 4, p. 683-688, 2002.

JUGE-AUBRY, C. E.; Meier, C. A. Immunomodulatory actions of leptin. Mol Cell Endocrinol, v. 194, n 1-2, p.1-7, 2002.

KAMEL, E. G.; MCNEILL, G.; VAN WIJK, M. C. W. Usefulness of anthropometry and DXA in predicting intraabdominal fat in obese men and women. Obes Res, v. 8, n. 1, p. 36-42, 2000.

KATAN, M.B. Fatty acids and health: an update. Scand. J. Nutr.,v. 43, p. 26, 1999.
KLEINUBING, M. C. Ações dos níveis plasmáticos de leptina e sua influência no controle do peso corporal. Revista Digital EF Deportes: Buenos Aires, 2003; Disponível em: http://www.efdeportes.com/efd64/leptina.htm. Acesso em: 27 jan 2014.

LA CAVA, A.; Matarese, G. The weight of leptin in immunity. Nat RevImmunol, v. 4, n. 5, p. 371–379, 2004.

LAGO, F. et al. The emerging role of adipokines as mediators of infl ammation and immune responses. Cytokine Growth Factor, v. 18, n. 3-4, p.313-325, 2007.

MAFRA, D.; FARAGE, N.E. O papel do tecido adiposo na doença renal crônica. J Bras. Nefrol. v. 28, n. 2, p. 108-113, 2006.

MARQUES, A. P. O. et al. Prevalência de obesidade e fatores associados em mulheres idosas. Arq Bras Endocrinol Metab, v. 49, n. 3, p. 441-448, 2005.

MARTIN, L. J. et al. Leptin's sexual dimorphism results from genotype by sex interactions mediated by testosterone. Obes Res, v. 10, n. 1, p. 14–21, 2002.

MARTINEZ, J. A. et al. Obesity risk is associated with carbohydrate intake in women carrying the Gln27Glu beta2-adrenoceptor polymorphism. J Nutr., V. 133, N. 8, P. 2549-2954, 2003.

MATARESE, G.; MOSCHOS, S.; MANTZOROS C. S. Leptin in immunology. J Immunol, v. 174, n. 6, p. 3137–3142, 2005.

MEMISOGLU, A. et al. Interaction between a peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene polymorphism and dietary fat intake in relation to body mass. Hum Mol Genet., V. 12, n. 22, p. 2923-2329, 2003.

MOTA, G. R.; ZANESCO, A. Leptina, ghrelina e exercício fisico. Arq Bras Endocrinol Metab, v. 51, n. 1, p. 25-33, 2007.

NAGATSUYU, D. T. et al. O impacto da obesidade abdominal sobre os níveis plasmáticos de lípideos nos idosos. Medicina (Ribeirão Preto), v. 42, n. 2, p. 141-147, 2009.

NASCIMENTO, A. F. et al. A Hypercaloric Pellet-Diet Cycle Induces Obesity and Co-Morbidities in Wistar Rats. Arq Bras Endocrinol Metab, v. n. 52/6, p. 968-974, 2008.

OCHOA, M. C. et al., A. TV watching modifies obesity risk linked to the 27Glu polymorphism of the ADRB2 gene in girls. Int J Pediatr Obes., v. 1, n. 2, p. 83-88, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva, 1995. (WHO Technical Report Series, n. 854).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Prevenção das doenças crônicas não-transmissíveis. Geneva, 2004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Estatísticas mundiais de saúde. Genebra, 2012. 180 p.

PAULI, J. R. et al. Efeitos do Exercicio Fisico na Expressao e Atividade da AMPKα em Ratos Obesos Induzidos por Dieta Rica em Gordura. Ver. Bras. Med. Esporte, v. 15, n. 2, p. 98-103, 2009.

PINHEIRO, A. R. O.; FREITAS, S. F. T.; CORSO, A. C. T. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. Revista de Nutrição, Campinas, v. 17, n. 4, p.523-533, 2004.

PINHO, C. P. S. et al. Prevalência e fatores associados à obesidade abdominal em indivíduos na faixa etária de 25 a 59 anos do Estado de Pernambuco, Brasil . Cad. Saúde pública v.29, n.2, p. 313-324, 2013.

POOBALAN, A. S. et al. Obesity as an independent risk factor for elective and emergency caesarean delivery in nulliparous women – systematic review and meta-analysis of cohort studies. Obes Rev., v. 13, p. 28–35, 2009.

PRADO, W. L. et al. Obesidade e Adipocinas Inflamatórias: Implicações Práticas para a Prescrição de Exercício Rev Bras Med Esporte, v. 15, n. 5, p. 378-383, 2009.

RIBEIRO FILHO, F. F. et al. Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. Arq Bras Endocrinol Metabol, v. 50, n. 2, p. 230-238, 2006.

ROCHA, F.L. et al. Correlação entre indicadores de obesidade abdominal e lipídeos séricos em idosos. Rev assoc med bras., v. 59, n. 1, p. 48-55, 2013.

ROSINI, T. C.; DA SILVA, E. R. S.; MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. Rev Assoc Med Bras, v 58, n 3, p. 383-387, 2012.

SANCHEZ-MARGALET, V. et al. Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. Clin Exp Immunol, v. 133, n. 1, p. 11–19, 2003.

SANTOS, R. S.; VIANNA, L. M. Dieta hipercalórica agrava a hipertensão arterial em ratos espontaneamente hipertensos. Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr,v. 32, n. 1 p. 1-9, 2007.

SILVEIRA, M. R. et al. Correlação entre obesidade, adipocinas e sistema imunológico. Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum, v. 11, n. 4, p. 466-472, 2009.

STOTLAND, N. E. et al. Gestational weight gain and adverse neonatal outcome among term infants. Obstet Gynaecol, v. 13, p.635–643, 2006.

TIAN, Z. et al. Impaired natural killer (NK) cellactivity in leptin receptor deficient mice: leptin as a critical regulatorin NK cell development and activation. Biochem Biophys Res Commun, v. 298, n. 3, p. 297–302, 2002.

TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. Nat Rev Immunol, v. 6, n. 10, p.772-783, 2006.

TSCHOP, M.; HEIMAN, M. L. Rodent obesity models: an overview. Exp Clin Endocrinol Diabetes, v. 109, n. 6, p. 307-319, 2001.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA. Obesidade custa R$ 488 milhões por ano ao SUS. Brasília, 2013. Disponível em: <http://www.unb.br/noticias/unbagencia/cpmod.php?id=94270>. Acesso em: 27 jan. 2014.

VACHHARAJANI, V.; VITAL, S. Obesity and Sepsis. J Intensive Care Med, v. 21, p. 287-295, 2006.

VAGUE, J. La differentiation sexuelle, facteur determinante des formes de l'obésité. Presse Méd. v. 55, p.339-3340, 1947.

VASQUES, A. C. J. et al. Utilização de medidas antropométricas para a avaliação do acúmulo de gordura visceral. Revista de Nutrição Rev. Nutr., Campinas, v. 23, vn 1, p. 107-118, 2010

WANDERLEY, E. M.; FERREIRA, V. A. Obesidade: uma perspectiva plural. Ciênc Saúde Coletiva, v. 15, n. 1, p. 185-194, 2010.

WILDING, J. P. Leptin and the control of obesity. Curr Opin Pharmacol, v. 1, n. 6, p. 656-661, 2001.

WILDING, J. P. Are the causes of obesity primarily environmental? Yes. BMJ, v. 3450, p. 1145-1154, 2012.

WILLET, W. Is dietary fat a major determinant of body fat? Am J Clin Nutr, v. 67, p. 556-562, 1998.

WOLF, A. M. et al. Adiponectin induces the anti-infl ammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. Biochem Biophys Res Commun, v. 323, n. 2, p. 630–635, 2004.

WU, J.; COHEN, P.; SPIEGELMAN, B.M. Adaptive thermogenesis in adipocytes: Is beige the new brown? Genes & development, v. 27, p.234–250, 2013.

YANG, J. et al. FTO genotype is associated with phenotypic variability of body mass index. Nature, v. 490, n. 7419, p. 267–272, 2012.

ZAMBON, L. et al. Efeitos de dois tipos de treinamento de natacao sobre a adiposidade e o perfil lipidico de ratos obesos exogenos. Rev Nutr., v. 22, n. 5, p. 707-715, 2009.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 17 de junho de 2010.

Ofício nº 283/2010

Da Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Profª. Célia Maria Machado Barbosa de Castro**
Departamento de Nutrição – CCS - UFPE
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076. 024365/2010-21

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, ***"EFEITOS DO CONSUMO DE DIETA HIPERLIPÍDICA CONTINUADA SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E IMUNOLÓGICOS DE RATAS".***

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

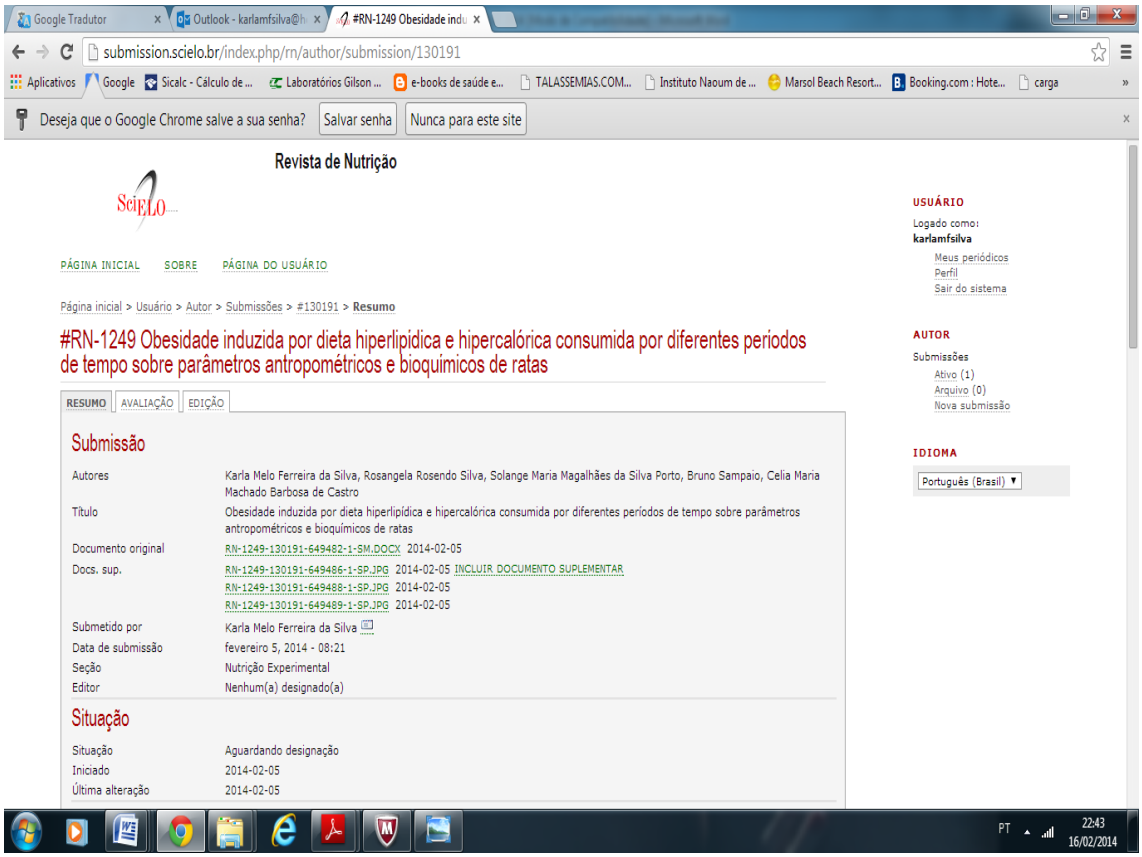
Observação:
Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição-UFPE; Animais: Ratos; linhagem: Wistar; Sexo: Feminino; Idade: 22 (vinte e dois) a 148 (cento e quarenta e oito) dias. Número de animais previsto no protocolo: 64 (sessenta e quatro)

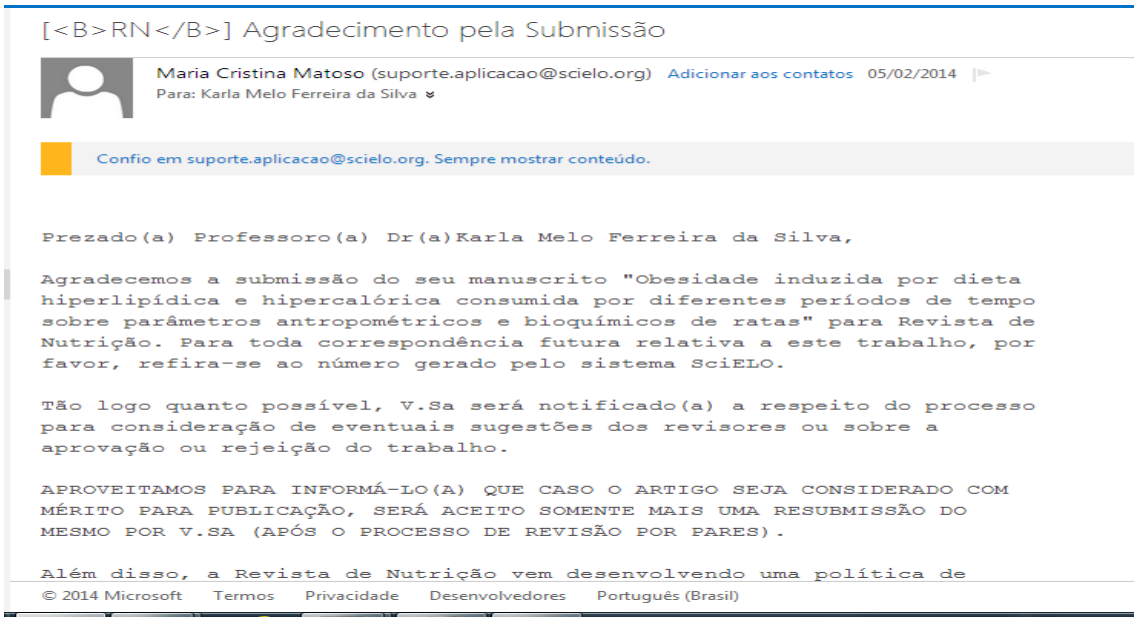
Atenciosamente,

Profa. Maria Teresa Jansem
Presidente do CEEA
UFPE

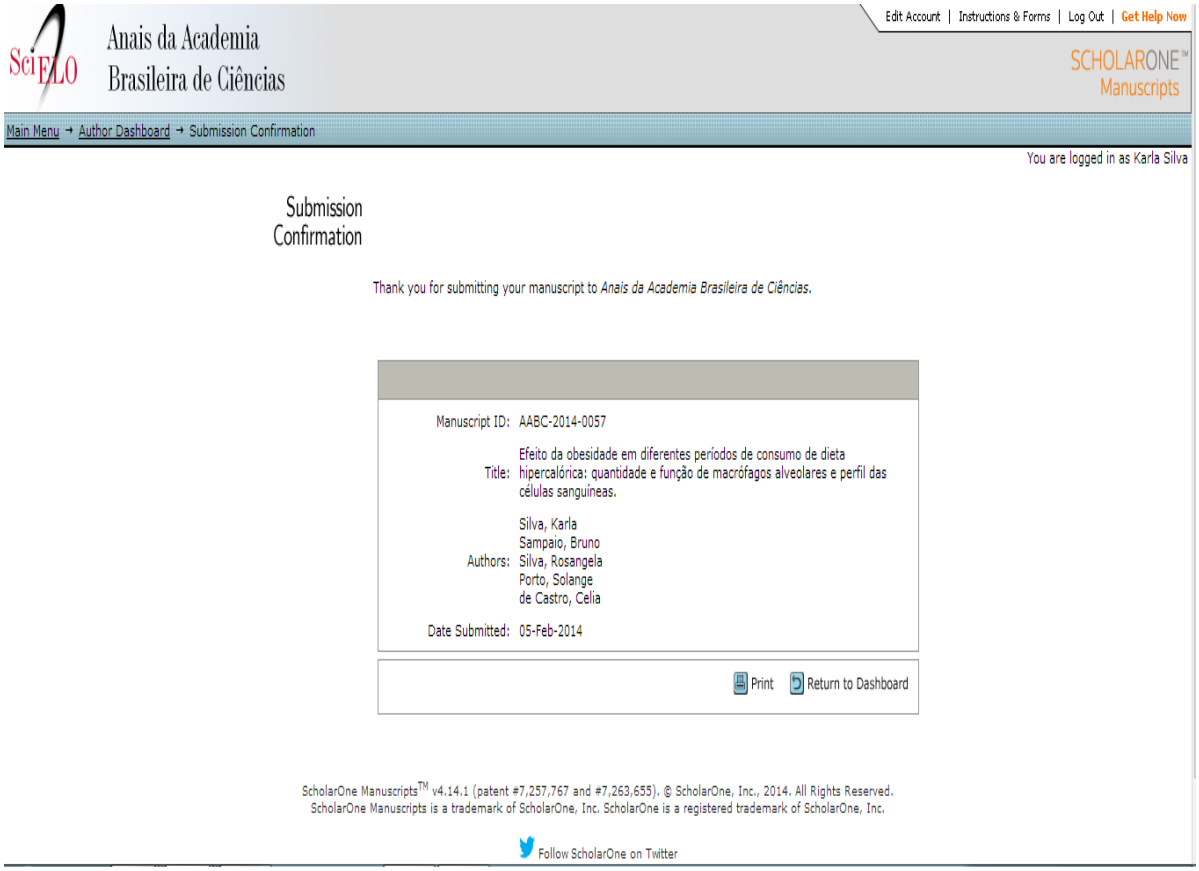
CCB: Integrar para desenvolver

ANEXO B – Documentação de encaminhamento do artigo I à Revista de nutrição PUC-Campinas





ANEXO C – Documentação de encaminhamento do artigo II à Revista da Academia brasileira de ciências



Anais da Academia Brasileira de Ciências

Edit Account | Instructions & Forms | Log Out | Get Help Now

SCHOLARONE™ Manuscripts

Main Menu → Author Dashboard → Submission Confirmation

You are logged in as Karla Silva

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Anais da Academia Brasileira de Ciências*.

Manuscript ID: AABC-2014-0057

Title: Efeito da obesidade em diferentes períodos de consumo de dieta hipercalórica: quantidade e função de macrófagos alveolares e perfil das células sanguíneas.

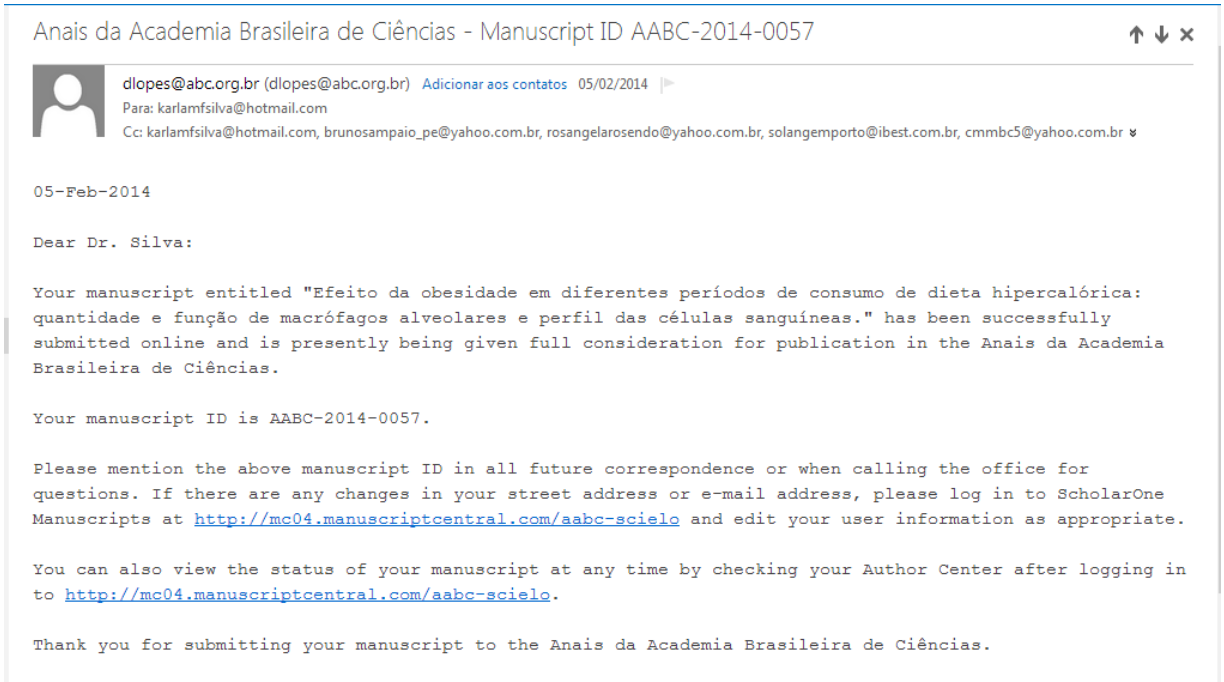
Authors: Silva, Karla
Sampaio, Bruno
Silva, Rosangela
Porto, Solange
de Castro, Celia

Date Submitted: 05-Feb-2014

Print Return to Dashboard

ScholarOne Manuscripts™ v4.14.1 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2014. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.

Follow ScholarOne on Twitter



Anais da Academia Brasileira de Ciências - Manuscript ID AABC-2014-0057

dlopes@abc.org.br (dlopes@abc.org.br) Adicionar aos contatos 05/02/2014

Para: karlamfsilva@hotmail.com

Cc: karlamfsilva@hotmail.com, brunosampaio_pe@yahoo.com.br, rosangelarosendo@yahoo.com.br, solangemporto@ibest.com.br, cmmbc5@yahoo.com.br

05-Feb-2014

Dear Dr. Silva:

Your manuscript entitled "Efeito da obesidade em diferentes períodos de consumo de dieta hipercalórica: quantidade e função de macrófagos alveolares e perfil das células sanguíneas." has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Anais da Academia Brasileira de Ciências.

Your manuscript ID is AABC-2014-0057.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at http://mc04.manuscriptcentral.com/aabc-scielo and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to http://mc04.manuscriptcentral.com/aabc-scielo.

Thank you for submitting your manuscript to the Anais da Academia Brasileira de Ciências.