

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

**CÂMPUS DE BOTUCATU**

**FLEXIBILIDADE FENOTÍPICA DO TRATO GASTROINTESTINAL DE RATOS PROPENSOS E  
RESISTENTES À OBESIDADE SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR**

**LUDIMILA CANUTO CABEÇO**

**Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia, Câmpus de Botucatu,  
UNESP, para obtenção do título de  
Mestre no Programa de PG em Biologia  
Geral e Aplicada**

**BOTUCATU - SP**

**2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

**CÂMPUS DE BOTUCATU**

**FLEXIBILIDADE FENOTÍPICA DO TRATO GASTROINTESTINAL DE RATOS PROPENSOS E  
RESISTENTES À OBESIDADE SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR**

**LUDIMILA CANUTO CABEÇO**

**PROFA. DRA MARIA DE LOURDES MENDES VICENTINI PAULINO**

**Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia, Câmpus de Botucatu,  
UNESP, para obtenção do título de  
Mestre no Programa de PG em Biologia  
Geral e Aplicada**

**BOTUCATU - SP**

**2008**

## *Dedicatória*

*Dedico esse trabalho ao meu pai José  
Carlos Cabeço, à minha mãe Maria de  
Fátima Canuto Cabeço, à minha irmã  
Janaína Canuto Lima e à Rhonda Byrne.*

## *Agradeço à minha família*

Aos meus pais, que me deram à vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade. Vocês iluminaram o meu caminho com afeto, companheirismo e dedicação para que eu o trilhasse sem medo. Doaram-se inteiros e renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, pudéssemos, eu e minha irmã, realizar os nossos. Amo vocês.

À minha irmã Janaína pelo amor e carinho e ao meu cunhado Danilo pela amizade e alegria.

A toda a minha família que acredito sempre estar na eterna torcida pelas minhas conquistas...

## *Agradecimentos*

Esse trabalho, embora seja considerado um trabalho individual, envolveu muitas pessoas que foram muito importantes ao longo desses dois anos e que guardo boas recordações. Agradeço:

À profa. Lourdinha, pela orientação, pelo companheirismo, pelo carinho, pelo exemplo de profissional competente e ético, pela paciência, pela confiança, pelo incentivo e auxílio prestados em todos os momentos.

À Daniela, a quem considero minha co-orientadora na prática, pelo apoio em todas as ocasiões em que precisei e pelo exemplo de pesquisadora e docente.

Ao Sr. Juninho, técnico do biotério, que me ajudou com sua alegria nas horas mais cansativas do experimento.

Ao Delála, técnico do dietário, que me auxiliou com todo empenho no momento da manipulação da dieta.

Ao André Nascimento pelo apoio na hora do desespero em se atingir uma dieta ideal para o nosso experimento.

À Dona Conceição, a Elaine e ao Renato, pela enorme colaboração na realização da técnica de digestibilidade de nutrientes.

À equipe do laboratório da professora Clélia que me auxiliou no dia do sacrifício dos animais, que por sinal foram muitos. O que seria de mim sem o Thiago e a Patrícia???

Às queridíssimas alunas da nutrição, da iniciação científica, Marcela, Mayume e Gisele pelo auxílio constante. Saudades...

À Luciana, secretária do departamento, pela colaboração em todos os meios burocráticos quando precisei e à equipe da secretaria da pós-graduação pela ajuda.

À professora Denise Rangel da Silva Sartori pela colaboração e preocupação para que tudo desse certo tanto na minha pesquisa como na minha formação como docente.

À professora e amiga Juliana Irani Fratucci de Gobi que sempre foi tão formidável e que sempre me incentivou.

Aos membros do Conselho da Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada pela luta em se construir uma pós-graduação de excelente qualidade e de caráter multidisciplinar, nesses últimos anos.

Ao pessoal da comissão do VII Workshop da Pós Graduação que entendeu meu afastamento.

Aos meus companheiros da turma de espanhol que se tornaram pessoas tão queridas e que sinto falta a todo instante. Ao Luiz e a sua esposa Camila, à Glaura, Clarianna e ao Júlio.

Ao Leonardo, pessoa maravilhosa que admiro muito e que sempre dá uma passadinha na sala da Lourdinha para me dar um bom dia.

Ao Paulo que sempre me ajudou e me acalmou, com sua calma, na representação dos pós-graduandos.

Às minhas amigas Narjara, Sara e Carolina que sinto muita falta.

À Clarianna, minha amiga que amo tanto e que sempre está comigo, me dando forças, me dando coragem. Agradeço todo momento pela sua presença em minha vida, num momento tão cheio de mudanças. Amiga, você me trouxe muitas alegrias e espero que a distância que em breve nos separara não nos impeça de continuarmos unidas.

Ao Márcio, uma pessoa muito querida e extraordinária que nesses últimos dias tem sido exemplo de força, de trabalho, de coragem e que, mesmo durante uma fase conturbada, esteve me dando apoio e tentando fazer dos meus dias, dias melhores. Obrigada pela sua importantíssima presença em minha vida e por mostrar o quanto a família tem importância nas nossas vidas. Guardo lembranças e um carinho enorme por você.

*Enfim, a todos aqueles que durante essa jornada fizeram dos meus dias, dias mais produtivos e alegres para que eu concluísse esse trabalho.*

*Aos meus mascotes:*



## ÍNDICE

<b>RESUMO</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	8
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	9
<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	13
1. - Obesidade e a restrição alimentar.....	13
2. - Modelos animais de obesidade.....	15
3. - Flexibilidade fenotípica do trato gastrointestinal: Efeitos da restrição alimentar.....	18
4. - A importância das dissacaridases intestinais e da lipase pancreática para digestão de carboidratos e de gordura.....	22
5.- Regulação gastrointestinal da saciedade alimentar.....	26
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	32
<b>CAPÍTULOS</b> .....	40
<b>Artigo 1-</b> Dieta hipercalórica tendo farinha de soja como fonte protéica. Utilização na seleção de ratos propensos e resistentes à obesidade.....	40
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	52
<b>Artigo 2-</b> Trato gastrointestinal de ratos propensos e resistentes à obesidade e a resposta à restrição alimentar.....	56
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	78

## RESUMO

Numa população heterogênea de ratos é possível selecionar animais resistentes e propensos à obesidade, que apresentam diferenças intrínsecas como no depósito de gordura e em parâmetros metabólicos, endócrinos e neurais. No entanto, as características do trato gastrointestinal desses animais e suas respostas à restrição alimentar são pouco estudadas. O objetivo deste trabalho foi, portanto, estudar parâmetros morfofuncionais do trato gastrointestinal de animais propensos e resistentes à obesidade e avaliar os efeitos da restrição alimentar sobre tais parâmetros.

Para tanto, ratos com 54 dias de idade foram inicialmente selecionados quanto à propensão e resistência à obesidade. Em seguida, todos os animais foram alimentados com dieta hiperlipídica por 10 semanas, após as quais os animais propensos (P) e resistentes à obesidade (R) foram divididos, sendo metade alimentado *ad libitum* (controle) e a outra metade restrito em 55% do ingerido pelo seu controle. Os grupos formados foram: PC = propenso controle; PR = Propenso Restrito; RC = Resistente Controle e RR = Resistente Restrito. Foram analisados a atividade enzimática intestinal (maltase e sacarase) e pancreática (lipase), digestibilidade de nutrientes, eficiência alimentar, peso corporal e peso de órgãos do trato gastrointestinal. Também foram quantificadas as gorduras de carcaça, periepídidimal e retroperitoneal. A comparação entre grupos P e R foi feita por teste t e entre os grupos PC, PR, RC e RR, por ANOVA, seguida de teste Tukey, com  $P < 0,05$ . O grupo propenso apresentou maior ingestão de alimentos, maior ganho de peso e maior peso corpóreo ao final do tratamento do que os resistentes. A eficiência alimentar foi similar nos dois grupos ( $P > 0,05$ ). Quanto aos parâmetros gastrointestinais analisados, foi verificado que apenas o intestino delgado e o fígado apresentaram diferenças de peso em função da propensão e resistência à obesidade, bem como em resposta à restrição. Porém, as respostas ocorreram na mesma intensidade em propensos e resistentes, sendo proporcionais ao peso corpóreo. A quantidade de gordura foi diferente entre propenso e resistente e em ambos houve diminuição da gordura total, periepídidimal e de carcaça em resposta à restrição. Concluímos que animais propensos e resistentes apresentam diferenças nas dimensões dos órgãos gastrointestinais que, na sua maioria, guardam relação com as diferenças de peso corpóreo. Exceção a isso, são os intestinos delgado e grosso, cujos comprimentos relativos

são maiores em animais resistentes. Concluimos também que não existem diferenças entre animais propensos e resistentes quando comparadas as respostas do trato gastrointestinal à restrição alimentar.

**ABSTRACT**

In a heterogeneous population of rats it is possible to select obesity-prone and obesity-resistant animals that show intrinsic differences in fat deposit and in metabolic, hormonal and neural parameters. However, the gastrointestinal tract characteristics and its response to food restriction are unknown. The aim of the present study was to determine the morphophysiological gastrointestinal parameters in obesity-prone and -resistant rats and to evaluate the effect of food restriction on these parameters. For that, 54 days old rats were analyzed to identify obesity-prone and obesity-resistant animals. After this, both animal groups were fed *ad libitum* with a hyperlipidic diet for 10 weeks, after what prone (P) and resistant (R) animals were divided in two subgroups: one fed *ad libitum* (control) and the other, 55 % food-restricted.

Thus, it was studied 4 groups: PC = Prone Control; PR = Prone Restricted; RC = Resistant Control and RR = Resistant Restricted. The parameters analyzed were: enzymes (maltase, sucrase and lipase) activity, nutrient digestibility, food efficiency, body weight and gastrointestinal tract organs weight. Carcass, periepididimal, retroperitoneal and total fats were also quantified. Prone and resistant groups were compared by t test and PC, PR, RC and RR groups were compared by ANOVA, followed by Tukey test ( $P < 0,05$ ).

Prone animals showed higher food intake, higher weight gain and heavier body mass than resistant ones. The food efficiency was similar in two groups ( $P > 0,05$ ). Small intestine and liver mass of prone rats were also heavier than resistant animals. However, the mass of small intestine and liver decrease proportionally to body weight variation after restriction. There was difference in periepididimal and total fat between prone and resistant rats and both groups had a reduction in these stores in response to the restriction. We concluded that prone and resistant animals show differences in the gastrointestinal organs, which are, in general, proportional to the body weight. Differently of the other organs, the small and large intestines had their biggest response in resistant rats, when it was considered the organs length. We also concluded that there was no difference between the responses of tract gastrointestinal in prone and resistant rats when submitted to food restriction.

## INTRODUÇÃO

Em uma população heterogênea de ratos submetidos a uma dieta hipercalórica é possível identificar um grupo que apresenta maior ingestão de alimentos, paralela ao maior ganho de peso corpóreo e de gordura (CHANG, 1990; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; MACLEAN et al., 2004b). Esses animais, que são considerados propensos à obesidade, correspondem ao terço superior, que ganha mais peso. No outro extremo, no terço inferior, estão situados os animais que ganham menos peso e são classificados como resistentes à obesidade.

Animais propensos e resistentes à obesidade podem ser selecionados precocemente, com apenas uma semana de tratamento com dieta de alto teor energético, sendo que a diferença de ganho de peso e de peso corpóreo nesses dois grupos é mantida posteriormente (MACLEAN et al., 2004b).

Na população humana, esse fenômeno também é observado (BLUNDELL et al., 2005). De acordo com BLUNDELL et al (2005), o ambiente obesigênico, que é caracterizado pela abundante oferta de alimento de alto conteúdo energético, é um fator potencializador do ganho de peso. Contudo, nem todas as pessoas expostas a esse ambiente tornam-se obesas, algumas permanecem magras. Essa diferença é atribuída à variabilidade biológica.

O desenvolvimento do fenótipo obeso nos animais propensos à obesidade tem sido atribuído à predisposição genética aliada ao desencadeador da alteração de peso e de gorduras corpóreas, a dieta hipercalórica. De fato, admite-se que os fatores endócrinos, metabólicos, morfológicos e neurais que determinam a obesidade já estejam estabelecidos geneticamente nesses animais, uma vez que se revelam quando o animal é exposto à dieta hipercalórica.

Além de maior ganho de peso corpóreo e maior aumento de consumo energético, os animais propensos apresentam também aumento no volume e na quantidade de células adiposas, (CHANG et al., 1990), maior eficiência energética e maior depósito das gorduras perirenal, retroperitonal, mesentérica e epididimal (LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; COMMERFORD et al., 2000; COMMERFORD et al., 2001; LEVIN & DUNN-

MEYNELL, 2002; LEVIN et al., 2003; MAcLEAN et al., 2004b; TKAES & LEVIN, 2004) quando comparados aos resistentes.

Além disso, os animais propensos possuem sensibilidade central reduzida a muitos sinais hormonais e metabólitos relacionados à homeostasia energética como à insulina (TKAES & LEVIN, 2004; CLEGG et al., 2005) e à leptina (LEVIN et al., 2003; LEVIN et al., 2004), como consequência da baixa expressão dos receptores correspondentes (TKAES & LEVIN, 2004).

CHANG et al. (1990), observaram baixa sensibilidade à insulina nos ratos propensos alimentados com dieta rica em gordura quando comparados aos resistentes e associaram a resistência à insulina aos altos níveis de ácidos graxos plasmáticos apresentados por este grupo. Foi verificado que animais propensos à obesidade apresentam baixa taxa de oxidação de gorduras em relação aos animais resistentes (COMMENFORD et al., 2000) e que nestes animais não existe um ajuste entre o que é consumido e o que é oxidado (CHANG et al., 1990).

Animais propensos e resistentes diferem também quanto a palatabilidade (LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2002). Ratos propensos à obesidade preferem dieta com alto teor de gordura (DOURMASHKIN et al., 2006). Similarmente, ratos Osborne-Mendel, com predisposição para obesidade, preferem alimentos com alto teor de gordura, enquanto ratos S5B/PL, que são resistentes à obesidade quando alimentados com dieta rica em gordura, preferem alimentos com alto teor de carboidratos. (GREENBERG et al., 1999). Esses dados demonstram que a palatabilidade tem grande importância na ingestão alimentar por esses animais.

Os ratos propensos e resistentes à obesidade apresentam respostas diferenciadas quando submetidos à restrição alimentar e quando são re-alimentados *ad libitum* após o período de restrição. Ambos os grupos apresentam perda de peso corpóreo, com intensidade semelhante, quando submetidos à restrição alimentar de 50% (LEVIN & DUNN-MEYNELL., 2000). Porém, enquanto os animais propensos diminuem depósitos de gordura, isso não é verificado nos animais resistentes. Animais resistentes à obesidade não apresentam diminuição dos níveis de leptina após restrição, o que é coerente com a hipótese de que a perda de peso nesse grupo se deve à perda de massa magra, já que os níveis de leptina são proporcionais ao depósito de gordura corporal (LEVIN & DUNN-MEYNELL.,

2000).

Quando os animais propensos são realimentados *ad libitum* após longo período de restrição alimentar, é observado aumento da eficiência metabólica e do apetite, o que contribui para o novo ganho de peso (MAcLEAN et al., 2004 a).

Pelo exposto, é possível concluir que alterações hormonais, metabólicas e do controle da ingestão podem estar relacionadas com a obesidade observada em animais propensos e com as respostas desses animais à restrição alimentar. Porém, outras funções podem estar afetadas nesses animais, principalmente aquelas relacionadas à eficiência alimentar e ao aproveitamento de alimentos, mais especificamente a função do trato gastrointestinal.

De fato, sabe-se que o trato digestório é altamente dinâmico e pode apresentar alterações morfofuncionais rápidas e acentuadas, que tem como consequência variações das próprias funções digestivas (FERRARIS et al, 2000). Assim, tem sido descritas alterações de digestão e absorção de nutrientes em função do ritmo circadiano, processos fisiopatológicos como diabetes, o estado fisiológico do animal, como gestação, lactação e idade, privação de vitaminas e, principalmente, em função da restrição na quantidade e na composição da dieta (ZARLING e MOBARHAN, 1987; ORTEGA et al., 1996; WEAVER et al., 1998; SABAT et al.; 1999; BOZA et al., 1999; VIJAYA-LAKSHMI et al., 2005; GOMES et al., 2005). Ou seja, as funções digestivas não apresentam um “padrão fixo” de resposta, mas são alteradas por diferentes estímulos.

Alterações do trato digestório provocadas por fatores ecológicos como períodos de escassez alimentar, migração e clima também já foram descritas em diversos vertebrados, como mamíferos, aves, anfíbios e répteis e esses estudos deram evidências de que o trato gastrointestinal apresenta adaptações ou ajustes morfofuncionais denominados de flexibilidade fenotípica (KARASOV et al., 1992; SABAT et al.; 1999; McWILLIAMS & KARASOV, 2001; PIERSMA & DRENT, 2003; NAYA & BOZINOVIC, 2006).

A Flexibilidade fenotípica é considerada um fenômeno que ocorre quando variáveis do meio interferem no animal e ele é capaz de apresentar mudanças comportamentais, fisiológicas e morfológicas reversíveis que garantam vantagem de sobrevivência (PIERSMA & DRENT, 2003). Esse fenômeno tem sido estudado, principalmente em situações de jejum e de restrição alimentar (KARASOV et al., 1992; SECOR et al., 1994;

STARK et al., 2003).

Nossa hipótese é de que animais propensos e resistentes à obesidade apresentem diferenças morfofuncionais no trato gastrointestinal e na flexibilidade fenotípica, quando submetidos à restrição alimentar.

Para testá-la, delineamos o presente experimento no qual foram analisados parâmetros morfofisiológicos do trato gastrointestinal em dois grupos de ratos que foram, primeiramente, selecionados quanto à propensão e resistência à obesidade, em seguida mantidos em dieta hiperlipídica e, posteriormente, avaliados em suas respostas à restrição alimentar de 55%. Na etapa inicial, esbarramos com a dificuldade de encontrar a dieta adequada, tanto quanto à sua formulação propriamente dita, que não deveria variar, como com o custo. A manipulação da dieta adequada passou, então, a ser também um dos objetivos do trabalho.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1- Propor uma dieta hiperlipídica, de baixo custo, como alternativa às utilizadas para induzir a obesidade. Para analisar a eficácia da dieta manipulada, foram quantificados o peso corpóreo e as gorduras retroperitoneal, periepídidimal, de carcaça e total nos grupos formados.

2- Investigar alterações em parâmetros morfofuncionais do trato gastrointestinal de animais propensos e resistentes à obesidade e sua resposta à restrição alimentar de 55%. Para tanto, foram analisados atividade enzimática intestinal (maltase e sacarase) e pancreática (lípase), digestibilidade de nutrientes, eficiência alimentar, peso corporal e dimensões dos órgãos do trato gastrointestinal. Também foram quantificadas as gorduras retroperitoneal, periepídidimal e de carcaça.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLUNDELL, J.E.; STUBBS, R.J.; GOLDING, C.; CRODEN, F.; ALAM, R.; WHYBROW, S.; NOURY, J.L.E, LAWTON, C.L. Resistance and susceptibility to weight gain: Individual variability in response to a high-fat diet. **Physiology & Behavior**, v.86, p.614-622, 2005.
- BOZA, J.J.; MÖENNOZ, D.; VUICHOUD, J.; JARRET, A.R.; GAUDARD-DE-WECK, D.; FRITSCHÉ, R.; DONNET, A.; SCHIFFRIN, E.J.; PERRUISSEAU, G.; BALLÉVRE, O. Food deprivation and refeeding influence growth, nutrient retention and functional recovery of rats. **Journal Nutrition**, v.129, p.1340-1346, 1999.
- CHANG, B.; GRAHAM, F.; YAKUBU, D.; LIN, J. C.; PETERS; HILL; J. O. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. **American Journal of Physiology- Regulatory Integrative & Comparative**, v. 259, p.1103-R1110,1990.
- CLEGG, D.J; BENOIT, S.C; REED, J.A; WOODS, S.C; DUNN-MEYNELL, A.; LEVIN, B.E. Reduced anorexic effects of insulin in obesity-prone rats fed a moderate fat diet. **American Journal of Physiology- Regulatory Integrative & Comparative**, v.288, p.R981-R986, 2005.
- COMMENFORD, S.R.; PAGLIASSOTTI, M.J.; MELBY, C.L.; WEI, Y.; GAYLES E.C.; HILL, J.O. Fat oxidation, lipolysis, and free fatty acid cycling in obesity-prone and obesity and obesity-resistant rats. **American Journal of Physiology- Endocrinology & Metabolism**, v. 279, p.E875-E885, 2000 .
- COMMENFORD, S.R; PAGLIASSOTTI, M.J; MELBY C.L; WEI Y; GAYLES E.C; HILL J.O. Inherent capacity for lipogenesis or dietary fat retention is not increased in obesity-prone rats. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v.280, p.R1680-R1687, 2001.
- DOURMASHKIN, J.T.; CHANG, G.Q.; HILL, J.O.; GAYLES, E.C.; FRIED, S.K.; LEIBOWITZ, S.F. Model for predicting and phenotyping at normal weight the long-term propensity for obesity in Sprague-Dawley rats. **Physiology & Behavior**, v.87, p.666-678, 2006.
- FERRARIS,R. P.; CAO, Q.X.; PRABHAKARAM, S .Chronic but not acute energy restriction increases intestinal nutrient transport in mice. **Journal Nutrition**, v.131, p. 779-786, 2000.

- GOMES J.R., PEREIRA A.A.M., BARTH P.L., SILVA J.S., LEITEM.L., WILLE .M., SOARES M.A.M. Circadian variation of the cell proliferation in the jejunal epithelium of rats at weaning phase. **Cellular Proliferation**, v.38, p.147-152, 2005.
- GREENBERG, D.; MCCAFFERY, J.; POTACK, J.Z.; BRAY, G.A.; YORK, D.A. Differential satiating effects of fats in the small intestine of obesity-resistant and obesity-prone rats. **Physiology & Behavior**, v.66, p.621-626, 1999.
- KARASOV, W. H. Tests of the adaptive modulation hypothesis for dietary control of intestinal nutrient transport. **American Journal of Physiology**, v.263, p.R496-502, 1992.
- LEVIN, B.E. & DUNN-MEYNELL, A.D.M. Defense of body weight depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 282, p.R46-R54, 2002.
- LEVIN, B.E. & DUNN-MEYNELL, A.D.M. Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats. **American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.278, R231-R237, 2000.
- LEVIN, B.E.; DUNN-MEYNELL, A.D.M.; RICCI, M.R.; CUMMINGS, D.E. Abnormalities of leptin and ghrelin regulation in obesity-prone juvenile rats. **American Journal Endocrinology Metabolic**, v. 285, p.E949-E957, 2003.
- LEVIN, B.E; DUNN-MEYNELL A.A; BANKS W.A. Obesity-prone rats have normal blood-brain barrier transport but defective central leptina signaling before obesity onset. **American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.286, R143-R150, 2004.
- MAcLEAN, P.S.; HIGGINS, J.A.; JOHNSON, G.C.; ELDER-FLEMING, B.K.; DONAHOO, W.T; MELANSON, E.L.; HILL, J.O. Enhanced metabolic efficiency contributes to weigh regain after weight loss in obesity-prone rats. **American Journal Regulatory and Integrative Physiology**, v.287, p.R1306-R1315, 2004 a.
- MAcLEAN, P.S. et al. Metabolic adjustments with the development, treatment, and recurrence of obesity in obesity-prone rats. **American Journal Regulatory and Integrative Physiology**, v.287, p.R288-R297, 2004 b.

- McWILLIAMS, S.R; KARASOV, W.H. Phenotypic flexibility in digestive system structure and function in migratory birds and its ecological significance. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.128, p.579-593, 2001.
- NAYA, D.E.; BOZINOVIC,F. The role of ecological interactions on the physiological flexibility of lizards. **Functional Ecology**, v.20(4), p.601-608, 2006.
- ORTEGA, M. A.; NUNEZ, M.C.; SUAREZ, M.D.; GIL, A.; SANCHEZ-POZO. Age-Related response of the small intestine to severe starvation and refeeding in rats. **Annals Nutrition Metabolism**. v. 40, p. 351-358, 1996.
- PIERSMA, T.; DRENT, J. Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. **Trends in Ecology and Evolution**, v.18, p.228-233, 2003.
- SABAT, P.; LAGOS, J.; BOZINOVIC, F. Test of the adaptive modulation hypothesis in rodents: dietary flexibility and enzymes plasticity. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v 123, p. 83-87, 1999.
- SECOR, S.M; STEIN, E.D; DIAMOND, J. Rapid upregulation of snake intestine in response to feeding: a new model of intestinal adaptation. **American Journal Physiology**, v. 266: p. 695-705, 1994.
- STARCK, J. M., RAHMAAN, G. H. A. Phenotypic flexibility of structure and function of the digestive system of japanese quail. **Journal of Experimental Biology**, v.206, p.1887-1897, 2003.
- TKAES, N.; LEVIN, B.E. Obesity-prone rats have preexisting defects in their counterregulatory response to insulin-induced hypoglycemia. **American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.287, p. R1110-R1115, 2004.
- VIJAYALAKSHMI,B.;SESIKERAN,B.;UDAYKUMAR,P.;KALYANASUNDARAM, S.; RAGHUNATH, M. Effects of vitamin restriction and supplementation on rat intestinal epithelial cell apoptosis. **Free Radical Biologic Medicine**, v.38(12), p.1614-1624, 2005.
- WEAVER, L.T.; DESAI, M.; HALES,C.N. Effects of protein restriction in early life and function of the gastrointestinal tract of the rat. **Journal Pediatric Gastroenterology Nutrition**, v.27, p.53-559, 1998.
- ZARLING, E.J.; MOBARHAN, S. Effect of restricting a balanced diet on rat intestinal

disaccharidase activity and intestinal architecture. **Journal Laboratory Clinical Medicine**, v.109: p.556-559, 1987.

## REVISÃO DA LITERATURA

### 1 - Obesidade e a restrição alimentar.

A obesidade não é considerada uma desordem singular, mas sim um grupo heterogêneo de condições com múltiplas causas que, em última análise, resultam no fenótipo de obesidade (FRANCISCHI et al, 2000). Os princípios mendelianos e a influência do genótipo na etiologia desta desordem podem ser atenuadas ou exacerbadas por fatores não-genéticos, como o ambiente externo e as interações psicossociais que atuam sobre mediadores fisiológicos de gasto e de consumo energético (JEBB, 1999).

Estudos recentes consideram a obesidade como um distúrbio epidemiológico que afeta vários países, inclusive o Brasil (MONTEIRO,2000; PINHEIRO et al, 2004; BERNARD et al., 2005). De fato, em pesquisa realizada no Brasil, no período de 1975 a 1997, observou-se aumento significativo do índice de obesidade, independente do nível econômico do grupo estudado (MONTEIRO, 2000). Nos Estados Unidos, em 1999, 64,8% dos adultos estavam acima do peso, sendo que 30,8% já eram considerados obesos (KORNER & ARONNE, 2003).

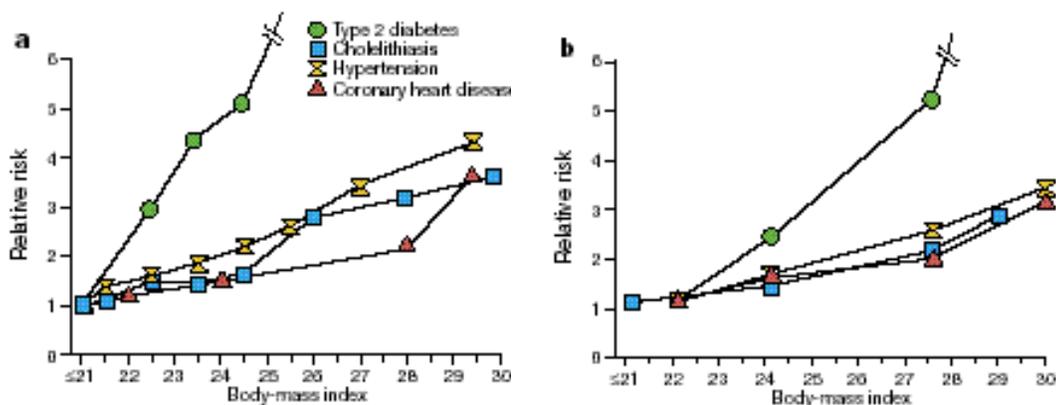
Deste modo, a obesidade tem sido considerada tão preocupante quanto o estado de desnutrição mundial. De fato, até duas décadas atrás, a desnutrição era assumida como um problema relevante para os países em crescimento econômico e a obesidade para países desenvolvidos (PINHEIRO et al, 2004). Na atualidade, a obesidade é avaliada como um problema mundial, presente tanto em países desenvolvidos como em países ainda em crescimento (POPKIN & DOAK, 1998).

O aumento significativo de casos de obesidade nos últimos 20 anos dificilmente poderia ser explicado por mudanças genéticas que tenham ocorrido nesse intervalo de tempo. A causa para esse distúrbio tem sido atribuída à ingestão calórica inadequada e redução no gasto calórico diário, associadas à predisposição genética (JEBB, 1999).

Nos seres humanos, a obesidade pode ser definida em termos do IMC (Índice de Massa Corporal) que é calculado pela fórmula  $[\text{peso (Kg)}]/[\text{altura(m)}^2]$ . O indivíduo com IMC menor que 25 é considerado normal, IMC entre 25 e 29 é considerado com sobrepeso e acima de 30, como obeso (KORNER & ARONNE, 2003).

Altos índices de massa corporal (*Figura 1*) estão relacionados a algumas das mais recorrentes doenças da sociedade moderna e ao aumento da mortalidade (KOPELMAN, 2000). Enfermidades como diabetes *mellitus*, hipertensão, doenças cardiovasculares, neoplasias, disfunções endócrinas, disfunção da vesícula biliar, artrite óssea, problemas pulmonares, e apnéia do sono são associadas à obesidade (KOPELMAN, 2000; FRANCISCHI et al., 2000 e KORNER & ARONNE, 2003).

Portanto, práticas que conduzam à diminuição do peso corpóreo por meio de um balanço energético negativo e de exercícios são necessárias. O balanço energético é considerado positivo, quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto, e isso contribui para o desenvolvimento da obesidade, promovendo aumento nos estoques de energia e peso corporal (PEREIRA et al., 2003).



**Figura 1.** Figura adaptada de KOPELMAN (2000). Relação entre doenças e índice de massa corpórea (a) e relação entre risco de morte e índice de massa corpórea (b).

Um dos tratamentos mais utilizados pelas pessoas consideradas acima do peso, com índice de massa corpórea acima de  $25\text{kg/m}^2$ , é a restrição da ingestão energética. Duas estratégias comumente utilizadas são o uso das dietas com valor calórico muito baixo (Very Low Calorie Diets, VLCD), com consumo energético menor de 800 Kcal/dia e restrições energéticas moderadas, com consumo de 1200 Kcal/dia (COWBURN et al., 1997 apud FRANCISCHI et al., 2000). Embora a perda de peso através da VLCD seja mais rápida, existe uma maior dificuldade da manutenção do peso perdido após o término da dieta.

Esses tratamentos dão resultados em pouco tempo, mas a manutenção não é de fácil estabelecimento, sendo o ideal a rigorosa e criteriosa mudança de hábito alimentar e a

prática de exercícios físicos para manutenção do peso perdido. WILLIANS (1996) apud BERNARD et al (2005) refere que pessoas que persistem em dietas de baixa caloria perdem grandes quantidades de peso, em média, 20 Kg em 12 a 16 semanas. Contudo, a maioria destes indivíduos recupera o peso perdido dentro de um curto período de tempo.

Trabalhos recentes mostram que após restrição alimentar, o organismo se modula de forma a se tornar mais eficiente na conversão do que é consumido em estoque energético. De fato, esse fenômeno, conhecido também como crescimento compensatório, resulta em alta ingestão e conseqüente ganho de gordura corporal (HORNICK et al, 2000).

Como a restrição alimentar voluntária é uma prática de difícil manutenção, em casos extremos, muitos obesos considerados em nível de morbidez, IMC acima de 30, recorrem às cirurgias bariátricas e diabsortivas. Estas cirurgias podem desde reduzir o tamanho do estômago, como reduzir o intestino delgado, diminuindo, portanto, tanto o espaço disponível ao armazenamento inicial do alimento após ingestão, como redução da superfície digestiva e absorptiva intestinal (VAGE et al., 2002; BUCHWALD et al., 2004). Estas cirurgias promovem uma restrição alimentar involuntária.

## **2. - Modelos animais de obesidade**

Em virtude das muitas complicações ocasionadas pelo aumento do peso nos seres humanos, modelos animais de obesidade são desenvolvidos com o objetivo de possibilitar maior conhecimento sobre essa doença, bem como sobre as formas de tratá-la.

Muitas investigações com animais de laboratório são destinadas à identificação de genes implicados na obesidade e homólogos aos dos seres humanos. Nesses estudos, observam-se mutações monogênicas e poligênicas, a caracterização de *loci* relacionados com a obesidade através do cruzamento de animais com genótipo conhecido e fenótipo obeso e a produção de animais transgênicos ou *knockout* de genes relacionados com a obesidade (MÁRQUEZ-LOPES et al., 2004).

Vários modelos animais com mutação monogênica são utilizados nos estudos de obesidade, entre eles o rato Zucker (fa/fa), rato db/db, o rato ob/ob, Tubby e o *agouti*. A rato Zucker e o rato db/db apresentam resistência a leptina, por conseqüência de alterações nos receptores para esse hormônio. Nos ratos ob/ob, a leptina, que é um dos hormônios responsáveis pela saciedade alimentar, ou não é codificada ou é biologicamente inativa e,

portanto, embora apresentem receptores normais para esse hormônio, esses animais não codificam o sinal de saciedade (GALE et al., 2004; MÁRQUEZ-LOPES et al., 2004).

Os ratos Tubby apresentam obesidade de aparecimento lento, com pequena resistência à insulina, hipoglicemia e transtornos sensoriais (MÁRQUEZ-LOPES et al., 2004). Os ratos *agouti* apresentam hiperfagia, hipertrofia do tecido adiposo e aumento do tamanho do animal. Nesses animais, existe a expressão de uma proteína *agouti*, antagônica a ação do hormônio melanócito estimulante (MÁRQUEZ-LOPES et al., 2004).

Também é possível obter animais poligênicos, como os Osbornel Mendel, propensos a obesidade quando alimentados com dieta hiperlipídica (GREENBERG et al., 1999) e os C57BL/6J, resistentes a obesidade quando alimentados com dieta hiperlipídica (COLLINS et al., 2004), que permitem avaliar as interações da susceptibilidade genética com outras variáveis de interesse (MÁRQUEZ-LOPES et al., 2004).

Segundo BRAY & BOUCHARD (1997), apud MÁRQUEZ-LOPES et al. (2004), também é possível produzir animais obesos produtos da manipulação genética. Nesse caso, altera-se a função genética relacionada com a obesidade, através da expressão aumentada, anulação ou regulação de diversos genes. Dessa forma, se obtém animais obesos, por exemplo, por inibição do receptor de glicocorticóides, expressão diminuída de CRH (hormônio liberador de corticotrofina) e ACTH (hormônio adrenocorticotrofina), expressão aumentada da proteína *agouti* e do receptor GLUT-4, ou por bloqueio da expressão de UCP (proteína desacopladora mitocondrial) e do receptor adrenérgico  $\beta_3$ , bombesina e serotonina. Em contrapartida, animais *knockout* para o neuropeptídeo Y expressam baixa quantidade de gordura corporal (MÁRQUEZ-LOPES et al., 2004).

Outro mecanismo adotado para indução à obesidade, que não por meio de manipulação e seleção genética, é por meio de lesão hipotalâmica, no núcleo arqueado, que pode ser provocada, por exemplo, por injeção subcutânea de glutamato monossódico (DOLNIKOFF et al., 1988). Essa região é conhecida por secretar peptídeos e hormônios com importantes funções neuroendócrinas. Quase todos os modelos de lesão hipotalâmica causam hiperinsulinemia de jejum, em função da hiperatividade vagal, causando hipersecreção de insulina (SOUZA et al., 2001). A lesão, também pode ser por estímulo elétrico no núcleo ventromedial hipotalâmico (KING, 1991).

Contudo, de acordo com YORK (1992) e FESTING (1979), o uso de dietas com alta densidade energética é um modelo mais realista e apropriado para os estudos da obesidade humana do que o emprego de animais manipulados e alterados geneticamente. De fato, é necessário prestar a atenção às limitações dos modelos transgênicos para validar a função fisiológica de um determinado gene, pois este pode regular diversas outras vias e outros tecidos do organismo, assim como ser substituído por algum outro mecanismo compensatório (MÁRQUEZ-LOPES, 2004).

Portanto, muitas dietas são manipuladas na tentativa de se alcançar os índices de gordura e açúcar ideais para indução da obesidade em animais de laboratório. Estudos apontam que dieta hiperlipídica, de alto teor energético, é importante na etiologia da obesidade, levando a um excesso de peso em cães, suínos, esquilos, e ratos (WILLET, 1998). Exposição prolongada a dietas ricas em gordura resulta num balanço energético positivo e à obesidade em certos modelos de roedores que podem ser considerados modelos adequados de obesidade humana (ESTADELLA et al., 2004).

Porém, mesmo em trabalhos em que a dieta hiperlipídica é responsável pelo aumento de peso corpóreo observa-se que nem todos os animais se tornam obesos, apenas um grupo apresenta peso e parâmetros metabólicos alterados, característicos de obesidade (NASCIMENTO et al., 2005).

Esse fato é coerente com a informação de que numa mesma população de ratos é possível distinguir animais propensos e resistentes à obesidade. Segundo CHANG et al. (1990) e MAcLEAN et al. (2004) é possível identificar animais propensos e resistentes à obesidade após curto período de tempo de tratamento com dieta de alto conteúdo energético. Depois de uma semana de tratamento, os animais são separados em 3 subgrupos de acordo com o ganho de peso obtido (MAcLEAN et al., 2004). O terço superior é considerado propenso à obesidade e o terço inferior, resistente à obesidade. Os animais propensos continuam a ganhar mais peso e tecido adiposo do que os demais animais resistentes à obesidade ao longo tratamento e, além disso, apresentam parâmetros hormonais, metabólicos e neurais diferenciados que os caracterizam como grupos distintos (DOURMASHKIN et al., 2006). Acreditamos que esse modelo é mais realista, uma vez que esse fenômeno também é observado na população humana. (BLUNDELL et al., 2005). De acordo com BLUNDELL et al (2005), o ambiente obesigênico, que é caracterizado pela

abundante oferta de alimento de alto conteúdo energético, é um fator potencializador do ganho de peso. Contudo, nem todas as pessoas expostas a esse ambiente tornam-se obesas, algumas permanecem magras.

### **3 - Flexibilidade fenotípica das funções digestivas: Efeitos da restrição alimentar.**

O trato gastrointestinal é um sistema complexo e dinâmico capaz de se alterar conforme a demanda nutricional e sofrer ajustes morfofuncionais quando submetido a situações adversas. Esse sistema é responsável pela digestão e absorção do alimento. Para tanto, precisa promover a mistura do bolo alimentar com as secreções digestivas as quais, junto com os movimentos, promovem redução do alimento em moléculas passíveis de serem absorvidas para o sangue. Para os processos de digestão e absorção é necessário também que o trato gastrointestinal seja capaz de expressar enzimas e transportadores em número e especificidade variáveis (BERNE et al., 2004).

O intestino delgado, responsável pela maior parte da digestão química e absorção alimentar, apresenta vilosidades e criptas, onde ocorre proliferação celular. Nas criptas, os enterócitos, ainda imaturos, se multiplicam e migram para as vilosidades. Durante o trajeto, algumas deles expressam componentes, como os transportadores e as enzimas de membrana, que os caracterizam como células maduras e capazes de exercer funções (BUTS et al., 1993; PÁCHA, 2000). Diferentes células iniciam a secreção de hormônios, peptídeos e muco (PÁCHA, 2000). As células, após exercerem suas funções, sofrem apoptose, completando um ciclo de vida.

O processo de renovação celular não é lento, as células mais superficiais das vilosidades se renovam rapidamente. Tanto a taxa da proliferação celular nas criptas quanto a apoptose das células maduras é alta (BUTS et al., 1993).

As células do intestino delgado apresentam membrana apical com microvilosidades, organizadas de forma a aumentar a superfície de contato do alimento com enzimas, como a sacarase e maltase, que se encontram na membrana do enterócito, bem como aumentar o contato das moléculas provenientes da digestão com a superfície absorptiva e com os transportadores, como por exemplo, de glicose com SGLT1 ou de frutose com GLUT 5 (PÁCHA, 2000; THOMSON et al., 2001; BERNE et al., 2004).

Portanto, o trato gastrointestinal é altamente dinâmico e pode apresentar alterações

morfofuncionais rápidas e acentuadas, que tem como consequência variações das próprias funções digestivas (FERRARIS et al, 2000).

Entre os fatores que influenciam a digestão e absorção de nutrientes estão o ritmo circadiano, processos fisiopatológicos como diabetes, o estado fisiológico do animal, como gestação, lactação e idade, a privação de vitaminas e proteínas e a quantidade da dieta entre outros (ZARLING e MOBARHAN, 1987; ORTEGA et al., 1996; WEAVER et al., 1998; BOZA et al., 1999; VIJAYA-LAKSHMI et al., 2005; GOMES et al., 2005).

Foi observado que o ciclo diário de fases clara e escura pode influenciar os níveis de proliferação celular do epitelial intestinal (GOMES et al., 2005) e que os níveis de RNAm dos transportadores SGLT-1, GLUT-2 e GLUT-5 também se alteram durante o dia, aumentando de duas a oito vezes antes do animal iniciar o seu período de alimentação (CORPE & BURANT, 1996).

Quanto a processos fisiopatológicos que podem afetar as funções digestivas, podemos citar a diabetes, na qual é observada alteração da expressão de transportadores de frutose na membrana em escova. De fato, foi relatado aumento de 80% nos níveis de RNAm do GLUT-5, o transportador envolvido na absorção deste monossacarídeo (CASTELLO et al., 1995).

Pode-se observar que ao longo do desenvolvimento ontogenético os processos morfofisiológicos do animal se alteram. Na fase pré-natal, já se observa, por exemplo, a expressão de RNAm da enzima lactase, a enzima preponderante após nascimento, visto que o leite materno, rico em lactose, é a principal fonte de alimento do animal. Conforme o animal se desenvolve, há declínio da lactase e aumento da produção das enzimas maltase e sacarase. Foi relatado ainda aumento da atividade das hidrolases intestinais com o envelhecimento do animal, o que pode ser consequência de uma maturação celular prolongada ao longo da vilosidade do intestino proximal e de adaptações à alta concentração intraluminal de substratos na porção distal (GOSSE et al, 1988; BUDDINGTON, 1994). Isso mostra que a idade do animal também influi na atividade digestiva.

Quanto à composição do alimento, foi observado que a privação de vitaminas pode aumentar os índices de apoptose celular no epitélio intestinal, enquanto a privação de proteína pode afetar a estrutura e função das vilosidades (VIJAYA-LAKSHMI et al., 2005).

Já foi observado também que dieta livre de proteína altera a arquitetura intestinal, com diminuição da superfície mucosa e de enzimas digestivas (MONTROYA et al., 2006).

Em relação à quantidade da dieta, a restrição e o jejum alimentar estão entre os fatores mais estudados. No entanto, é possível encontrar resultados muitas vezes contraditórios que podem ser atribuídos a diferenças quanto à intensidade de restrição, o tipo (protéica e protéica/energética), a duração e a fase do desenvolvimento em que ela é imposta (ORTEGA et al., 1996; WEAVER et al., 1998; DUNEL-ERB et al., 2003; VICK et al., 2003).

O que se pode observar, na maioria desses trabalhos, é que o trato gastrointestinal é extremamente sensível ao estresse nutricional. O jejum, de modo geral, provoca respostas que podem ser consideradas restritivas à função gastrointestinal (ORTEGA et al., 1996; DUNEL-ERB et al., 2003; VICKY et al., 2004) enquanto que na restrição as respostas são variadas, podendo ocorrer aumento de algumas atividades ou funções gastrointestinais e diminuição de outras (WEAVER et al., 1998; CASSIROLA et al., 1996, FERRARIS et al., 2000).

De fato, foi observado que o jejum provoca diminuição das dissacaridases maltase e sacarase em todas as fases do desenvolvimento do rato (ORTEGA et al., 1996), além de redução no peso conjunto de intestino e estômago e da mucosa do jejuno (DUNEL-ERB et al., 2003). Também ocorre diminuição da proliferação celular intestinal em camundongos submetidos à restrição de 75, 50 e 25% de alimento, por 48 horas (VICK et al., 2004).

Contudo, a restrição alimentar por período de dois dias provocou aumento na digestibilidade aparente de proteína bruta em ratos adultos, indicando maior absorção do nitrogênio da dieta (VERNON et al., 1981). Também, foi observado a preservação do transporte de glicose intestinal durante restrição protéica- energética em coelhos (BUTZNER et al., 1990) e aumento do transporte de glicose e frutose, por miligrama de tecido intestinal, em camundongos submetidos à restrição energética de 30% (FERRARIS et al., 2000). Além disso, a diminuição na oferta de energia a camundongos de 9 a 24 meses de idade não afetou o peso dos órgãos do trato digestivo nem a capacidade absorptiva (CASSIROLA et al., 1996). Resultados como estes últimos têm levado à hipótese de que o trato digestivo pode, por meio de mecanismos adaptativos, ser poupado dos efeitos da restrição alimentar quando os animais são mantidos por longo tempo nessa condição

(FERRARIS e DIAMOND, 1997; FERRARIS et al., 2000).

Em seres humanos obesos submetidos à técnica Small Bowel Bypass também é possível observar adaptações do trato gastrointestinal. Essa técnica também conhecida como diabsortiva, é uma forma de restrição involuntária, pois impede que o alimento seja digerido totalmente por interrupção do intestino delgado, por consequência diminui a absorção. Em 4 pacientes, cuja tempo de cirurgia prescrevia de 11 a 22 meses, foram analisados quanto à atividade das dissacarídes em regiões específicas do jejuno e do íleo. O trabalho mostrou que o íleo sofre maior adaptação morfológica (hipertrofia) e bioquímica (aumento das dissacarídes) do que o jejuno, e que os nutrientes intraluminais e do quimo parecem ser essenciais para essa máxima adaptação intestinal (DUDRICK et al., 1977).

O aumento ou a manutenção da atividade digestiva e absorptiva, observados durante restrição alimentar, parecem não guardar relação com a superfície mucosa. De fato, ratos recém desmamados submetidos à restrição alimentar por cinco semanas mostram aumento da atividade de lactase e sacarase, embora apresentem diminuição da altura das vilosidades e da profundidade das criptas intestinais (ZARLING & MOBARHAN, 1987). Por outro lado, em ratos recém-nascidos, cuja desnutrição foi obtida por expansão da ninhada, foi verificado aumento da atividade da lactase, mas diminuição do peso do intestino e da atividade das enzimas sacarase e maltase (HATCH, 1979). Além disso, o transporte de açúcar intestinal na restrição alimentar aumenta mesmo com baixas concentrações luminal e independe da diminuição da massa da mucosa intestinal (BUTZNES et al., 1990).

A restrição materna, imposta durante gestação e lactação também é capaz de afetar as funções do trato gastrointestinal da prole. De fato, ocorre diminuição da altura e do diâmetro das vilosidades do duodeno e jejuno em ratos recém desmamados cujas mães sofreram restrição protéica durante gestação e amamentação (SUBRAMONIAM, 1979). Verifica-se também diminuição do peso corpóreo, do conteúdo de DNA e do peso do intestino, além de deficiência na atividade enzimática intestinal e pancreática em ratos recém-nascidos em consequência de restrição protéico-energética de 50% imposta às ratas-mãe (YOUNG et al., 1987). Em leitões, cujas mães foram submetidas à restrição alimentar de 80%, foi observado alteração na composição lipídica da membrana celular do jejuno e íleo, com rearranjo de fosfolipídios, tornando a membrana mais permeável (LOPEZ-PEDROZA et al., 1998). Por outro lado, a produção da lactase foi aumentada em animais

desmamados cujas mães foram submetidas à restrição proteica de 40% (WEAVER et al., 1998).

Todos esses trabalhos demonstram a alta capacidade do sistema gastrointestinal se modular em função do estado nutricional do animal. De fato, desde a década de 90, sabe-se que as funções digestivas não apresentam um “padrão fixo” de resposta, mas são alteradas por diferentes estímulos, dentre eles, fatores ecológicos como período de escassez alimentar, migração e clima. Essas alterações, que já foram descritas em diversos vertebrados, como mamíferos, aves, anfíbios e répteis, evidenciam que o trato gastrointestinal apresenta uma flexibilidade fenotípica (KARASOV et al, 1992; McWILLIAMS & KARASOVE, 2001; PIERSMA & DRENT, 2003; NAYA & BOZINOVIC, 2006). A Flexibilidade fenotípica é considerada um fenômeno que ocorre quando variáveis do meio interferem no animal de forma a torná-lo capaz de apresentar mudanças comportamentais, fisiológicas e morfológicas reversíveis que garantam vantagem de sobrevivência (PIERSMA & DRENT, 2003). Esse fenômeno tem sido estudado, principalmente em situações de jejum e de restrição alimentar (KARASOV et al, 1992; SECOR et al.,1994; STARK et al., 2003).

Embora as adaptações do trato gastrointestinal possam ocorrer em situações diversas, os animais de uma mesma população podem responder a um mesmo estímulo de forma variada por apresentarem fenótipo diferenciado, exemplo disso são os animais propensos e resistentes a obesidade que apresentam padrões metabólicos, endócrino, comportamentais e neurais alterados. Numa situação de restrição alimentar, espera-se que estes grupos apresentem também flexibilidade fenotípica diferenciada.

#### **4.- A importância das dissacaridases intestinais e da lipase pancreática para digestão de carboidratos e de gordura.**

Aproximadamente metade das calorias da ingestão média norte-americana é proveniente de carboidratos, sendo o amido sua maior fonte (BERNE et al., 2004). Além do carboidrato, alto teor energético de gordura é encontrado nos alimentos comercializados na atualidade. Existe uma tendência crescente para o consumo de alimentos, promovido pela indústria alimentícia através da abundante produção de alimentos saborosos, de alta densidade energética e de custo relativamente baixo (GARCIA, 2003).

Ambos, carboidrato e gordura, são os maiores responsáveis pelo aumento de peso na obesidade. O entendimento sobre os processos de digestão desses nutrientes é fundamental, já que o trato gastrointestinal é o primeiro dentre os sistemas de órgãos responsáveis pelos processos iniciais de captação energética.

Os carboidratos dietéticos incluem os polissacarídeos de glicose (amido, celulose e glicogênio), os dissacarídeos (sacarose, maltose e lactose) e açúcares simples como os monossacarídeos glicose, frutose e galactose. Estes últimos são os únicos passíveis de serem absorvidos no processo absorptivo intestinal sem auxílio da ação enzimática (BERNE et al., 2004).

Celulose, glicogênio e amido são chamados de carboidratos complexos. A celulose, polímero com ligações  $\beta$ -glicosídases, não é degradada em humanos, pela ausência de enzimas específicas que quebrem ligações  $\beta$ -glicosídases e, por conseqüência, passa a ser classificada como fibra ou substância não digerível da nossa dieta (BERNE et al., 2004). O glicogênio proveniente principalmente das carnes é degradado por processo semelhante ao do amido.

O amido é um polímero de glicose, que pode se apresentar na forma de cadeia retilínea, chamada amilose ou de cadeia ramificada, chamada de amilopectina. A amilose consiste de cadeias de unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4. Na amilopectina as cadeias formadas por ligações  $\alpha$ -1,4 apresentam pontos de ramificação formados por ligações  $\alpha$ -1,6 e, portanto, constitui-se em uma molécula altamente ramificada.

A digestão do amido é iniciada na boca pela enzima salivar  $\alpha$ -amilase, sendo inativada no estômago onde o pH é ácido. Mas, a digestão do amido é continuada por meio da  $\alpha$ -amilase pancreática no duodeno. Ambas amilases realizam as mesmas hidrólises e agem nas ligações  $\alpha$ -1,4. As amilases não conseguem hidrolisar as ligações  $\alpha$ -1,6 das ramificações, as ligações terminais  $\alpha$ -1,4 ou as ligações  $\alpha$ -1,4 adjacentes a pontos de ramificação  $\alpha$ -1,6.

O produto da hidrólise do amido pelas amilases são maltose, maltotriose e malto-oligossacarídeos e dextrinas de limite -  $\alpha$ . A digestão desses oligossacarídeos se dá por enzimas localizadas na bordadura em escova da membrana epitelial dos enterócitos no duodeno e do jejuno, que são conhecidas por maltase ou glicoamilase e  $\alpha$ -dextrinase.

As dextrinas de limite  $\alpha$  são clivadas nas ligações  $\alpha$ -1,6 nos pontos de ramificação pela  $\alpha$ -dextrinase. A maltose, maltotriose e malto-oligossacarídeos são hidrolisadas pela maltase ou glicoamilase. O produto da ação dessas enzimas é unicamente glicose (BERNE et al., 2004).

O dissacarídeo sacarose é hidrolisado pela sacarase, também conhecida com isomaltase, formando glicose e frutose. Essa enzima é produzida no intestino delgado e se encontra inserida também na bordadura em escova das células epiteliais intestinais. A sacarase e  $\alpha$ -dextrinase são subunidades associadas de forma não covalente de uma única proteína. Depois que esta proteína é inserida na membrana em escova, ela é clivada em dois polipeptídios que formam duas enzimas diferentes e que permanecem associadas através da ligação não covalente.

A lactose, também conhecida como açúcar do leite, é composta pelos monossacarídeos galactose e glicose. As duas moléculas são conectadas por uma ligação  $\beta$ -1,4 e sua clivagem se dá pela atividade da enzima lactase.

Segundo FLORES et al (1986), a administração de dieta rica em dextrose aumenta a atividade da sacarase e da maltase tanto em animais obesos C57/BL como em ratos normais, quando comparado com a administração de dieta baixa em dextrose. Contudo, o maior aumento dessas dissacarídes se deu nos animais obesos C57/BL (FLORES et al., 1986). Segundo MOZES (2004), não existe diferença na atividade da maltase intestinal entre ratos obesos tratados com glutamato monossódico no pós natal e animais controles, mas foi observado em ratos Zucker, o aumento da atividade da sacarase e maltase no jejuno (MATSUO et al., 1992).

Outras enzimas importantes para a digestão são as secretadas pelo pâncreas exócrino. Alterações na atividade das enzimas pancreáticas afetam a digestão de lipídios, proteínas e de carboidrato. O pâncreas é responsável pela produção da maior parte das enzimas envolvidas na digestão de gorduras (BERNE et al., 2004)

Dentre as enzimas secretadas pelas células acinares pancreáticas estão a  $\alpha$ -amilase, já descrita anteriormente, que cliva amido em oligossacarídeos, as enzimas proteolíticas pro-carboxipeptidases, tripsinogênio, quimiotripsinogênios e proelastases que clivam proteínas em oligopeptídeos e as enzimas lipolíticas, chamadas lipases.

As lipases pancreáticas podem ser classificadas como hidrolase de éster de glicerol (carboxil esterase- PTL -lipase pancreática), hidrolase de éster do colesterol (carboxil ester lipase) e fosfolipase A2, cujas ações resultam geralmente na redução de lipídios em ácido graxos mais monoglicerídios ou colesterol livre (BERNE et al., 2004; WHITCOMB & LOWE, 2006).

*Hidrolase de éster de glicerol ou Lipase pancreática de triglicerídeo (PTL)*

A lipase pancreática de triglicerídeo (PTL) é a mais conhecida e estudada das lipases. A expressão de mRNA da PTL em vertebrados adultos é mantida alta pelo pâncreas exócrino e pode ser detectada em baixos níveis em outros tecidos. Em contraste, é pouco expressa em recém nascidos e começa a ser expressa a partir dos dois anos de idade (WHITCOMB & LOWE, 2006).

O mRNA da PTL codifica uma proteína de 465 aminoácidos. Os primeiros 16 aminoácidos compreendem os peptídeos sinalizadores que a mantêm inativada. PTL humana isolada apresenta massa molecular de 48 KDa e um uma cadeia simples de oligossacarídeos(WHITCOMB & LOWE, 2006).

A estrutura cristalográfica da PTL demonstra que a proteína tem dois domínios. O domínio N-terminal tem uma  $\alpha/\beta$  hidrolase dobrada que está presente nas outras lipases e esterases. Esse domínio contém um trio catalítico Ser-His-Asp que, como a lipase gástrica, esta na alça abaixo da superfície, no domínio próximo à superfície, definido por pontes dissulfeto entre Cys238 e Cys262. Nessa posição, a alça está numa conformação inativa da PTL o que impede o acesso ao substrato (WHITCOMB & LOWE, 2006).

A PTL é uma carboxil esterase que hidrolisa acilglicerídeos, mas não fosfolipídios, éster de colesterol ou galactolipídios. Cliva extensas cadeias de acil nas posições  $\alpha$  dos triglicérides mostrando uma preferência por cadeias acil nas posições sn-1 e sn-2. Por ser produzida em larga escala pelo pâncreas, a PTL cliva cadeias longas de triglicérides da dieta eficientemente (WHITCOMB & LOWE, 2006) .

*Hidrolase de éster de colesterol- Lipase carboxil esterase (CEL)*

Sua atividade lipolítica foi distinguida da PTL alguns anos atrás. Essa enzima (CEL) foi purificada do suco pancreático e esteve presente em 4 % do total de proteína quantificada. A CEL tem peso molecular de 100KDa e é uma glicoproteína. O cDNA prediz uma proteína de 722 aminoácidos incluindo 20 aminoácidos de peptídeo sinal.

Apresenta alto conteúdo de prolina, localizadas nos 25% final da proteína (WHITCOMB & LOWE, 2006).

As CELs pertencem à família  $\alpha/\beta$  hidrolase. Apresentam tríade Ser-His-As catalítica e como a PTL têm uma alça na superfície que abriga o sítio ativo.

São conhecidas como colesterol esterase ou lipase dependente de sal biliar. *In vitro*, hidrolizam triglicérides, éster de colesterol, fosfolipídeos, lisofosfolipídeos, ceramidas, éster de vitaminas e galactolipídeos. Apresentam duas funções potencialmente importantes de hidrolisar o monoacilglicerol e os glicerolipídeos contendo cadeias longas de ácido graxo polienólico.

#### *Fosfolipase A2 pancreática (PLA2)*

Essa enzima tem peso molecular de 14KDa. Apresenta uma seqüência de 125 aminoácidos, incluindo o peptídeo sinal e cataliza a hidrólise do éster sn2-acyl do fosfolipídeo.

Existem evidências de que o pâncreas exócrino em animais obesos mostra atividade enzimática diferenciada. Em ratas Zucker, foi verificado aumento da atividade da lipase, da amilase e da tripsina (SCHNEEMAN et al., 1983).

Segundo KARASOV & HUME (1997), a produção das enzimas sofrem alterações, chamadas de adaptações, de acordo com a necessidade do organismo e do nutriente ingerido.

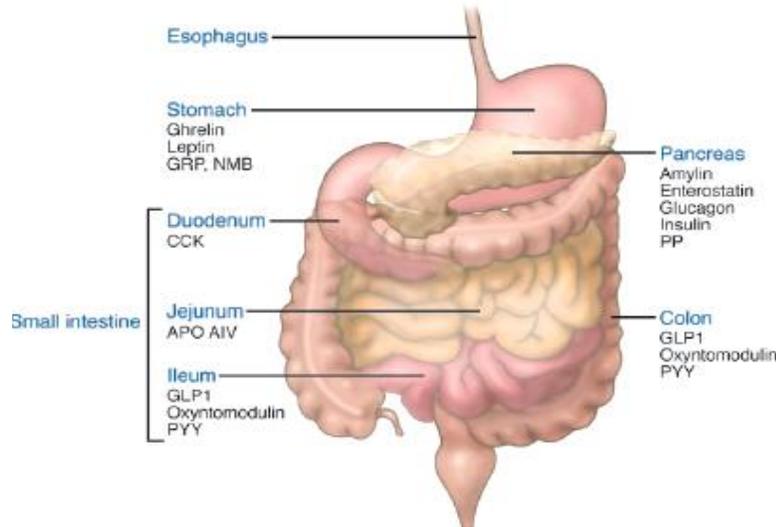
### **3. - Regulação gastrointestinal da saciedade alimentar.**

O comportamento alimentar é controlado pelas sensações de fome e saciedade e estas são decorrentes da interação de diversos fatores tais como o hábito, disponibilidade de alimentos, fatores sociais e culturais e da interação de diversos sinais fisiológicos de regulação (CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

A saciedade é a sensação que se faz necessária para terminar a ingestão alimentar durante a refeição e resulta de uma série coordenada de sinais hormonais e/ou neurais que são liberados pelo sistema digestório em resposta a propriedades da dieta ingerida e à distensão do trato gastrointestinal. Esses sinais otimizam a digestão e absorção eficiente dos nutrientes por atuar na motilidade e secreção do trato gastrointestinal. A função da saciedade é evitar uma ingestão exagerada acarretando em digestão incompleta e distúrbios

por excessivos níveis de glicose e outros nutrientes (CHAUDHRI et al., 2008; CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

Os sinais de saciedade são produzidos em diversos sítios do sistema gastrointestinal em resposta à presença de nutrientes. Entre esses locais são incluídos estômago, intestino delgado proximal e distal, cólon e pâncreas (*Figura 2*).



**Figura 2.** Figura adaptada de Cummings & Overduin (2007). Sítios de produção de sinais de saciedade do trato gastrointestinal.

### ***Sinais Gástricos***

O estômago, como outros órgãos do trato gastrointestinal, produz fatores que participam da saciedade alimentar. Dentre os fatores endócrinos estão a grelina, a leptina e a bombesina (RITTER, 2004).

#### ***Grelina:***

Um importante regulador de ingestão alimentar ou fome é um peptídeo de 28 aminoácidos com uma cadeia ácida octanóica lábil no resíduo três de serina, sendo secretado em células enterocromafins especializadas, localizadas principalmente na mucosa do estômago (KOJIMA et al., 1999; WREN et al., 2000). A grelina estimula a secreção de ácido gástrico e pode induzir à formação excessiva de tecido adiposo ao ativar um mecanismo central para aumentar a ingestão de alimentos e diminuir o uso de gorduras (SANTORO et al., 2003).

Níveis altos de grelina têm sido encontrados em homens, antes de cada refeição, caindo para níveis baixos imediatamente após alimentação (GALEL et al., 2004), fazendo assim parte do controle da fome.

Embora, a grelina induza à hiperfagia e ao aumento de peso quando administrada em ratos (WREN et al., 2001), altos níveis de grelina não são causas frequentes de obesidade, pois nos indivíduos obesos os níveis de grelina se apresentam baixos (SANTORO et al., 2003; LEVIN et al., 2003). Contudo, quando ocorre perda de peso, os níveis de grelina aumentam e estimulam a fome, o que acarreta novo ganho de peso (SANTORO et al., 2003).

Tem sido demonstrado que a administração periférica ou central desse peptídeo nos ventrículos cerebrais induz ganho de peso em roedores, indicando função orexígena desse peptídeo (WREN et al., 2000). O consumo induzido pela grelina é em parte mediado e controlado pelos peptídeos Y (NPY) e agouti (AGRP) (GALEL & CASTRACANE, 2004).

#### *Leptina*

É uma proteína sintetizada principalmente pelo tecido adiposo, mas já foi detectada também em outros tecidos, como no epitélio gástrico. É uma proteína glicolisada com 16 KDa e apresenta 146 aminoácidos. Tem papel em diversos processos fisiológicos, mas está principalmente relacionada à homeostase energética e à saciedade alimentar (GALEL & CASTRACANE, 2004). No estômago, a leptina é liberada em resposta a ingestão de alimentos e segundo PETERS et al (2004) contribui para sensação de saciedade, um efeito mediado por vias vagais aferentes.

A leptina age sobre o sistema de neurônios neuropeptídeos Y (NPY) e os pro-opiomelanocortina (POMC) presentes no hipotalâmico, no núcleo arqueado (BECK, 2000)

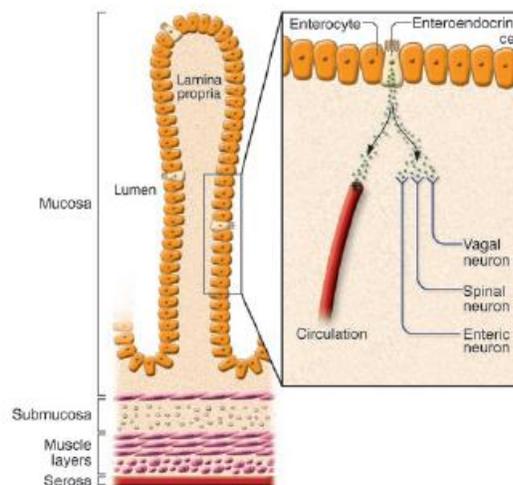
Já é sabido que a leptina reduz a sensação de fome a partir da inibição da formação de neuropeptídeos relacionados ao apetite, como o neuropeptídeo Y (FRIEDMAN & HALAAS, 1998). Estudos sugerem que a CCK atua juntamente com a leptina sobre a inervação aferente, considerando uma atuação sinérgica entre os dois peptídeos (RITTER, 2004). Em ratos propensos à obesidade, a leptina está aumentada (LEVIN et al., 2003), embora não haja inibindo o apetite.

#### *Bombesina*

São peptídeos localizados nos neurônios intrínsecos do estômago, que atuam na saciedade, promovendo a redução do consumo alimentar. Esse controle é via inervação vagal e espinhal aferente (RITTER, 2004).

### *Sinais intestinais*

Mediadores intestinais da saciedade, produzidos por células enteroendócrinas, são liberados em resposta à presença de alimentos (Figura 3). Esses mensageiros são liberados no líquido intersticial para ativar fibras nervosas ou entrar em contato com a corrente sanguínea (CUMMINGS & OVERDUIN, 2007). Entre esses mediadores, estão colecistocinina (CCK), a apolipoproteína AI-V (APO AIV), GLP-1, PYY e Oxintomodulina.



**Figura 3.** Figura adaptada de Cummings & Overduin (2007) Mediadores intestinais da saciedade liberados em resposta à presença de alimentos, agindo em neurônios e/ou entrando em contato com a corrente sanguínea.

### *Colecistocinina (CCK)*

É produzida pelas células I da mucosa do duodeno e do jejuno e também por neurônios cerebrais. No trato gastrointestinal é secretada em resposta a nutrientes luminiais (RITTER, 2004). Os mecanismos endócrinos e neurais da CCK regulam muitas funções do trato gastrointestinal, incluindo a saciedade. A CCK induz a saciedade em parte por inibir o esvaziamento gástrico, aumentando a estimulação de mecanorreceptores gástricos e em parte por agir via nervo vago aferente (CHAUDHRI et al., 2008; CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

### *Apolipoproteína A-IV*

É uma glicoproteína secretada pelo intestino em resposta à absorção de gordura e à formação de quilomícrons. Também é produzida pelo núcleo arqueado hipotalâmico. A administração exógena da apolipoproteína A-IV diminui o tamanho da refeição ingerida, o consumo alimentar e o ganho de peso (CUMMINGS & OVERDUIN, 2007). Já é sabido que a diminuição da ingestão pelo gordura intestinal é mediada por neurônios sensitivos vagais (RITTER, 2004).

### *GLP-1*

O peptídeo glucagon-like (GLP-1) é sintetizado e liberado pelas células L intestinais e também por população de neurônios cerebrais. No intestino é produzido predominantemente no intestino delgado distal e o cólon (RITTER, 2004; CHAUDHRI et al., 2008; CUMMINGS & OVERDUIN, 2007). Administração de GLP-1 periférico diminui o consumo alimentar em seres humanos e outros animais (CHAUDHRI et al., 2008). Também existem evidências de que a GLP-1 ativa neurônios aferentes vagais atuando assim na saciedade (RITTER, 2004).

### *Oxintomodulina*

Como o GLP-1, a oxintomodulina é um peptídeo derivado do pró-glucagon e é secretado pelas células L intestinais em proporção à ingestão calórica. Ativa neurônios no hipotálamo. Sua administração induz à diminuição no consumo alimentar, enquanto aumenta a energia expendida e reduz o ganho de peso (RITTER, 2004; CHAUDHRI et al., 2008; CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

### *PYY*

É um polipeptídeo de 36 aminoácidos, orexigênico hipotalâmico, produzido pelas células L intestinais distais, localizadas no íleo e cólon. É secretado em resposta a ingestão calórica, potencialmente pela ingestão de gordura. A administração do PYY reduz a ingestão alimentar e ganho de peso em ratos. Em pessoas obesas, os níveis de PYY se apresentam diminuídos em relação às pessoas normais. Diversos experimentos sugerem seu envolvimento na saciedade (RITTER, 2004; CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

### *Sinais pancreáticos*

#### *Peptídeo pancreático de saciedade – PP*

É produzido pelas células das ilhotas pancreáticas e sua secreção é estimulada pela ingestão alimentar. Agem em receptores para peptídeo YY, influenciam a função exócrina pancreática e biliar, a secreção de ácido gástrico e a motilidade. Injeção periférica de PP reduz consumo e ganho de peso em animais normais e geneticamente modificado, os obesos ob/ob. Em humanos, a administração diminui o apetite, independentemente do esvaziamento gástrico (CHAUDHRI et al., 2008; CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

#### *Enterostatina*

É um pentapeptídeo clivado pela pro-colipase, que é secretado pelo pâncreas exócrino em resposta a ingestão de gorduras para facilitar sua digestão. A prolipase é secretada pelo intestino e por áreas cerebrais pertinentes a homeostasia energética. Injeção de enterostatina por via central e periférica reduzem a ingestão de gorduras (MANCINI & HALPERN, 2002; CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

#### *Insulina*

A insulina é um dos hormônios mais importantes do processo alimentar e é o único hormônio fisiológico que reduz significativamente os níveis de glicose sanguíneos. É um hormônio produzido por células específicas das ilhotas pancreáticas, as células  $\beta$ . Inicialmente é sintetizada como um pró-hormônio de 12 KDa, o qual, por processo intracelular, forma um pré-hormônio de 9 KDa com 86 aminoácidos, sendo subsequentemente empacotado em grânulos de armazenamento. Dentro destes grânulos, ligações dissulfeto são formadas entre as cadeias A e B da molécula de insulina e a região do peptídeo C que ao ser clivada, resulta na molécula funcional de insulina que passa a ter 6 KDa e apresentar 51 aminoácidos (BERNE et al.; 2004). Como a leptina, a insulina age sobre o sistema de neurônios neuropeptídeos Y (NPY) e os pro-opiomelanocortina (POMC) presentes no hipotalâmico, no núcleo arqueado, reduzindo a ingestão (BECK, 2000) Em ratos propensos à obesidade, a insulina tem efeito anoréxico reduzido (CLEGG et al., 2005).

#### *Amilina*

É um peptídeo secretado pelas células  $\beta$  após a refeição, juntamente com a insulina. Inibe o esvaziamento gástrico, a secreção ácida e de glucagon. Pode também diminuir o consumo alimentar após administração central e periférica (CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BECK, B. Neuropeptides and obesity. **Nutrition**, v.16, p.916-923, 2000
- BERNARD, F.; CICHELERO, C.; VITOLO, M.R. Comportamento de restrição alimentar e obesidade. **Revista de Nutrição**, v.18, p.85-93, 2005.
- BERNE, R. M; LEVY, M.N; KOEPPEN, B.M; STANTON, B.A. (2004). Fisiologia. Editora Elsevier, 5º edição.
- BLUNDELL, J.E.; STUBBS, R.J.; GOLDING, C.; CRODEN, F.; ALAM, R.; WHYBROW, S.; NOURY, J.LE, LAWTON, C.L. Resistance and susceptibility to weight gain: Individual variability in response to a high-fat diet. **Physiology & Behavior**, v.86, p.614-622, 2005.
- BOZA, J.J., MÖENNOZ, D., VUICHOD, J., JARRET, A.R., GAUDARD-DE-WECK, D., FRITSCHÉ, R., DONNET, A., SCHIFFRIN, E.J., PERRUISSEAU, G., BALLÉVRE, O. Food deprivation and refeeding influence growth, nutrient retention and functional recovery of rats. **Journal Nutrition**, v.129, p.1340-1346, 1999.
- BUCHWALD, H. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. **Journal American Medical Association**, v.292, p.1724-1737, 2004.
- BUDDINGTON, R.T. Nutrition and ontogenetic development of the intestine. **Canadian Journal Physiological Pharmacology**, v. 72, p.251-259, 1994.
- BUTS, J.P., KEYSER, N., KOLANOWSKI, J., SOKAL, E, VAN HOOFF, F. Maturation of villus and crypt cell functions in rat small intestine. **Digestive Diseases and Sciences**, v.38, p.1091-1098, 1993.
- BUTZNER, J.D., BROCKWAY, P.D, MEEDINGS, J.B. Effects of malnutrition on microvillus membrane glucose transport and physical properties. **American Journal Physiology**, v.259, p.940-946, 1990.
- CASSIROLA, D.M., RIFIKIN, B., TSAI, W., FERRARIS, R.P. Adaptations of intestinal nutrient transport to chronic caloric restriction in mice. **American Journal Physiology**, v. 271, p.192-200, 1996.
- CASTELLO, A.; GUMA, A.; SEVILLA, L.; FURRIOLS, M.; TESTAR, X.; PALACIN, M.; ZORZANO, A. Regulation of GLUT5 gene expression in rat intestinal mucosa:

- regional distribution, circadian rhythm, perinatal development and effect of diabetes. **Biochemistry Journal**, v.309, p.217-277, 1995.
- CHANG, B. GRAHAM, F. YAKUBU, D. LIN, J. C. PETERS and J. O. HILL. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. **American Journal of Physiology- Regulatory Integrative & Comparative**, v. 259, p.1103-R1110,1990.
- CHAUDHRI, O, B., SALEM, V.; MURPHY, K.G.; BLOOM, S.J. Gastrointestinal Satiety Signals. **Annual Review Physiology**, v.70 , p. 901-917, 2008.
- CLEGG, D.J; BENOIT S.C; REED J.A; WOODS S.C; DUNN-MEYNELL A; LEVIN B.E. Reduced anorexic effects of insulin in obesity-prone rats fed a moderate fat diet. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v.288, p.R981-R986, 2005.
- COLLINS, S.; MARTIN, T.L.; SURWIT, R.S.; ROBIDOUX, J. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. **Physiology & Behavior**, v.81, p.243-248, 2004
- COMMENFORD, S.R; PAGLIASSOTTI, M.J; MELBY C.L; WEI Y; GAYLES E.C; HILL J.O. Fat oxidation, lipolysis, and free fatty acid cycling in obesity-prone and obesity and obesity-resistant rats. **American Journal Physiology - Endocrinology & Metabolism**, v. 279, p.E875-E885, 2000.
- CORPE P. C; BURANT C.F. Hexose transporter expression in rat small intestine: effect of diet on diurnal variations. **American Journal Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.271, p.G211-G216, 1996.
- CUMMINGS, D.E; OVERDUIN, J. Gastrointestinal regulation of food intake. **Journal Clinical Investigation**, v.117, p.13-23, 2007.
- DOLNIKOFF, M.S.; KATER, C.E.; EGAMI, M.; ANDRADE, I.S.; MARMO, M.R. Neonatal treatment with monosodium glutamate increases plasma corticosterone in the rats. **Neuroendocrinology**, v.48, p.645-649, 1988.
- DOURMASHKIN, J.T.; CHANG, G.Q.; HILL, J.O.; GAYLES, E.C.; FRIED, S.K.; LEIBOWITZ, S.F. Model for predicting and phenotyping at normal weight the long-term propensity for obesity in Sprague-Dawley rats. **Physiology & Behavior**, v.87, p.666-678, 2006

- DUDRICK, S.J.; DALY, J.M.; CASTRO, G.; AKHTAR, M. Gastrointestinal adaptation following small bowel bypass for obesity. **Annals of Surgery**, v. 185, p. 642-648, 1977.
- DUNEL-ERB, S.; CHEVALIER, C.; LAURENT, P.; BACH, A.; DECROCK, F.; MAHO, Y.L. Restoration of the jejunal mucosa in rats refed after prolonged fasting. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.129, p.933-947, 2003.
- ESTADELLA, D.; OYAMA, L.M.; DÂMASO, A.R.; RIBEIRO, E.B.; OLLER, C.M. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v.20, p.218-224, 2004.
- FERRARIS, R.P.; DIAMOND, J. Regulation of intestinal sugar transport. **Physiological Reviews**, v. 77:p. 257-302, 1997.
- FERRARIS, R. P., CAO, Q.X., PRABHAKARAM, S. Chronic but not acute energy restriction increases intestinal nutrient transport in mice. **Journal Nutrition**, v.131, p. 779-786, 2000.
- FESTING, M.F.W. The inheritance of obesity in animal models of obesity. In: **Animal models of obesity** ( MFW, ed), p.15-37. London: Oxford University Press ,1979.
- FLORES, C.A.; BEZERRA, J.; BUSTAMANTE, S.; MACDONALD, M.P; KAPLAN, M. KOLDOVSKY, O. Effect of a high-dextrose diet on sucrase and lactase activity in jejunum of obese mice (C57BL/6J obob). **Journal American College Nutrition**, v.5, p.565-575, 1986.
- FRANCISCHI, R.P.P; PEREIRA, L. O; FREITAS, C.S; KLOPFER, M.;SANTOS,R.C.;VIEIRA, P.; LANCHAJUNIOR, A.H. Obesidade: atualização sobre etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, v.13, p.17-29. 2000
- FRIEDMAN, I.M.; HALAAS, J.L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, v.395, p.763-770, 1998.
- GALEL, S.M.; CASTRACANE, V.D. Energy homeostasis, obesity and eating disorders: recent advances in endocrinology. **American Society for Nutritional Sciences**, v. , p.295-298, 2004.
- GALEL, S.M.; CASTRACANE, D.; MANTZOROS, C.S. Grelina e controle da energia de homeostase. **NewsLab**, v.64, p130-138, 2004.

- GARCIA, R.W.D. Effects of globalization on food culture: considerations on urban food changes. **Revista de Nutrição**, v.16, p.483-492, 2003
- GOMES J.R., PEREIRA A.A.M., BARTH P.L., SILVA J.S., LEITEM.L., WILLE .M., SOARES M.A.M. Circadian variation of the cell proliferation in the jejunal epithelium of rats at weaning phase. **Cellular Proliferation**, v.38, p.147-152, 2005.
- GOSSE, F.R; DOFFOEL,M., DARMANTON, P., WESSELY, J.Y (1998). The effects of early postnatal acquired malnutrition intestinal growth, dissacaridases and enterokinases. **Journal Nutrition**, v.109, p.1874-1879.
- GREENBERG, D.; MCCAFFERY, J.; POTACK, J.Z.; BRAY, G.A.; YORK, D.A. Differential satiating effects of fats in the small intestine of obesity-resistant and obesity- prone rats. **Physiology & Behavior**, v.66, p.621-626, 1999.
- HATCH,T.F., LEBENTHAL,E., BRANSKI, D.; KRASNER, J. The effects of early postnatal acquired malnutrition intestinal growth, dissacaridases and enterokinases. **Journal Nutrition**, v.109, p.1874-1879, 1979.
- HORNICK, J.L.; VAN EENAEME, C.; GERARD, O.; DUFRASNE, I.; ISTASSE, L. Mechanisms of reduced and compensatory growth. **Domestic animal endocrinology**, v.19, p.121-132, 2000.
- JEBB, S.A. Obesity: from molecules to man . **Proceedings Nutrition Society**, v.58, p.1-14, 1999.
- KARASOV, W. H. Tests of the adaptive modulation hypothesis for dietary control of intestinal nutrient transport. **American Journal of Physiology**, v.263, p.R496-502, 1992.
- KARASOV, W.; HUME, J.D. Handbook of Comparative physiology. In. Dantzler, w editor. Vertebrate gastrointestinal system. **American Physiology Society**, Capítulo 7, p. 409-480, 1997.
- KING, B.M. Ventromedial hypothalamic obesity: A reexamination of the irritative hypothesis. **Neuroscience & Biobehavioral**, v.15, p.341-347, 1991.
- KOJIMA, M.; HOSODA, H.; DATE, Y. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. **Nature**, v.402, p.656-660, 1990.
- KOPELMAN, P.G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v.404, p.635-643, 2000.

- KORNER, J. ARONNE, L.J. The emerging science of body weight regulation and its impact on obesity treatment . **Journal Clinical Investigation**, v.111, p.565-560, 2003
- LEVIN, B.E.; DUNN-MEYNELL, A.A.; RICCI, M.R.; CUMMINGS, D.E. Abnormalities of leptin and ghrelin regulation in obesity-prone juvenile rats. **American Journal Physiology Endocrinology Metabolic** , v.285, p. E949-E957, 2003.
- LOPEZ-PEDROSA J. M.; TORRES M. L.; FERNÁNDEZ M. L.; ANTONIO RÍOS<sup>†</sup>, AND ANGEL GIL. Severe Malnutrition Alters Lipid Composition and Fatty Acid Profile of Small Intestine in Newborn Piglets. **Journal Nutrition**, v.128, p.224-233, 1998.
- MACLEAN, P.S. et al. Metabolic adjustments with the development, treatment, and recurrence of obesity in obesity-prone rats. **American Journal Physiology - Regulatory and Integrative Physiology**, v.287, p.R288-R297, 2004.
- MANCINI, M.C.; HALPERN, A. Aspectos fisiológicos do Balanço energético. Arquivo brasileiro de endocrinologia e metabolismo, v.46, 2002.
- MARQUES-LOPEZ, I.; MARTI,A.; MORENO-ALIAGA, M.; MARTINEZ, A. Aspectos genéticos da obesidade. **Revista de nutrição**, v17, p.327-338, 2004.
- MATSUO, T.; ODAKA, H.; IKEDA, H. Effect of intestinal disaccharidase inhibitor (AO-128) on obesity and diabetes. **American Journal Clinical Nutrition**, v55, p.314S-317S, 1992.
- McWILLIAMS, S.R; KARASOV, W.H. Phenotypic flexibility in digestive system structure and function in migratory birds and its ecological significance. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.128, p.579-593, 2001.
- MONTEIRO, C.A; BENICIO Shifting obesity trends in Brazil. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.54, p.342-346, 2000
- MONTOYA C.A.; LETERME P.; LALLES J.P. A protein-free diet alters small intestinal architecture and digestive enzyme activities in rats. **Reproduction Nutrition Development**, v. 46, p.49-56, 2006.
- MOZES, S.; SEFCIKOVÁ, Z.; LENHARDT, L.; RACEK, L. Effect of adrenalectomy on the activity of small intestine enzymes in monosodium glutamate obese rats. **Physiological Research**, v 53, p. 415-422, 2004.

- NASCIMENTO, A.F. et al. Modelo de dieta hipercalórica para indução da obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v.49, n.4 (suplemento 1), p.528-528, 2005
- NAYA, D.E.; BOZINOVIC, F. The role of ecological interactions on the physiological flexibility of lizards. **Functional Ecology**, v.20(4), p.601-608, 2006.
- ORTEGA M. A.; NUNEZ M.C.; SUAREZ M.D.; GIL A.; SANCHEZ-POZO (1996). Age-Related response of the small intestine to severe starvation and refeeding in rats. **Annal Nutrition Metabolism**. v. 40, p. 351-358, 1996.
- PÁCHA. P. Development of intestinal transport function in mammals. **Physiological Reviews**, v.80, p.633-1667, 2000.
- PEREIRA L.O; FRANCISCHI R.P; LANCHA A.H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v.47, p.111-127, 2003.
- PETERS, J.H.; KARPIEL, A.B.; RITTER, R.C.; SIMASKO, S.M. Cooperative activation of cultured vagal afferent neurons by leptin and cholecystokinin. **Endocrinology**, v.145, p.3652-3657, 2004.
- PIERSMA, T; DRENT, J. Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. **Trends in Ecology and Evolution**, v.18, p.228-233, 2003.
- PINHEIRO, A.R.O; FREITAS, S.F.T.; CORSO, A.C.T. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. **Revista de Nutrição**, v.17, p.523-533. 2004.
- POPKIN, B.M., DOAK, C.M. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. **Nutrition Reviews**, Washington DC, v.56, p.106-114.1998.
- RITTER, R.C. Gastrointestinal mechanisms of satiation for food. **Physiology Behavior**, v.81, p.249-273, 2004.
- SANTORO, S.; PRIETO-VELHOTE, M.C.; MALZONI, C.E.; MECHENAS, A.S.G.; STRASSMANN, V.; SCHEINBERG, M. Adaptação digestiva: Uma nova proposta cirúrgica para tratar a obesidade com base em fisiologia e evolução. **Einstein**, v.1, p.95-98, 2003.
- SCHNEEMAN, B.O, INMAN, M.D; STERNAN, J.S. Pancreatic enzyme activity in obese and lean Zucker rats: A development study. **Journal Nutrition**, v.113, p.921-925, 1983.

- SECOR, S.M; STEIN, E.D; DIAMOND, J. Rapid upregulation of snake intestine in response to feeding: a new model of intestinal adaptation. **American Journal Physiological**, v. 266: p. 695-705, 1994.
- SOUZA, F.; MARCHESINI, J.B.; CAMPOS, A.C.L.; MALAFAIA, O.; MONTEIRO, O.G.; RIBEIRO, F.B.; ALVES, H.F.P et al. Efeito da vagotomia troncular em ratos injetados na fase neonatal com glutamato de sódio: estudo biométrico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.16, 2001.
- STARCK J. M., RAHMAAN G. H. A. Phenotypic flexibility of structure and function of the digestive system of japanese quail. **Journal of Experimental Biology**, v.206, p.1887-1897, 2003.
- SUBRAMONIAM. A. Rat small intestinal morphology ywith special reference to villi: effects of maternal protein deficiency and hydrocortisone. **Acta Anatomic**, v.104, p. 439-450, 1979.
- THOMSOM A.B.R.; KEELAN, M.; THIESEN, M.D; CLANDININ, M.T; ROPELESKI, M.; WILD, G.E .Small bowel review: Normal physiology part 1. **Digestive Diseases and Science**, v.46, p.2567-2587, 2001.
- VAGE, V.; SOLHAUG, J.H.; BERSTAD, A.; SVANES, K.; VISTE, A. Jejuno ileal Bypass in the treatment of morbid obesity: a 25 year follow-up study of 36 patients. **Obesity Surgery**, v.12, p.312-318, 2002.
- VERNON J. W.;SENIOR.W. Effects of food restriction and body weight loss on metabolic fecal nitrogen excretion in the rat. **Journal Nutrition**, v.111, p.:581-585, 1981.
- VICKY L.; CHAPPELL, M. D.; THOMPSON, M. G.; JESCHKE, DAI H. CHUN, JAMES C. Effects of Incremental Starvation on Gut Mucosa. **Digestive Diseases and Sciences**, v.48: p. 765-769, 2004.
- VIJAYALAKSHMI B, SESIKERAN B, UDAYKUMAR P, KALYANASUNDARAM S, RAGHUNATH M. Effects of vitamin restriction and supplementation on rat intestinal epithelial cell apoptosis. **Free Radical Biologic Medicine**, v.38(12), p.1614-1624, 2005.
- WEAVER, L.T.; DESAI,M.; HALES,C.N. Effects of protein restriction in early life and function of the gastrointestinal tract of the rat. **Journal Pediatric Gastroenterology Nutrition**, v.27, p.53-559, 1998.

- WHITCOMB, D.C.; LOWE, M.E. Human Pancreatic Digestive Enzymes. **Digestive Diseases and Sciences**, v.52, p.1-34, 2007.
- WILLET W. Is dietary fat a major determinant of body fat? **American Journal Clinical Nutrition**, v.68, p.1144-1147. 1998.
- WREN, A.M.; SMALL, C.L.; WARD, H.L. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. **Endocrinology**, v.141, p.4325-4328, 2000.
- YORK DA. Genetic models of animal obesity . In: **Obesity** (Björntorp P, Brodoff BN, editors), p. 233-40, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, EUA, 1992.
- YOUNG,C.M.; LEE, P.C.; LEBENTHAL, E. Maternal dietary restriction during pregnancy and lactation. Effect on digestive organ development in suckling rats. **American Journal Clinical Nutrition**, v.46: p.36-40, 1987.
- ZARLING, E.J.; MOBARHAN, S. Effect of restricting a balanced diet on rat intestinal disaccharidase activity and intestinal architecture. **Journal Laboratory Clinical Medicine**, v.109: p.556-559, 1987.

---

**Dieta hiperlipídica tendo farinha de soja como fonte protéica. Utilização na seleção de ratos propensos e resistentes à obesidade.**

Cabeço, L.C.<sup>1</sup>; Akiba, M<sup>2</sup>; Calsa, M. S<sup>2</sup>; Pinheiro, D.F<sup>3</sup>; Vicentini-Paulino, M. L. M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Curso de Pós Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Unesp, Botucatu, SP.*

<sup>2</sup>*Curso de Nutrição do Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu, SP*

<sup>3</sup>*Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu, SP.*

**RESUMO**

Estudos experimentais de obesidade podem exigir o emprego de dietas hipercalóricas, com composição que varia de acordo com os objetivos. Porém, a maior parte delas emprega componente de alto custo, principalmente com relação à utilização de caseína como fonte protéica. O objetivo desse trabalho foi propor uma dieta hiperlipídica de fácil manipulação e baixo custo, como alternativa às dietas utilizadas na literatura e testar sua eficiência na seleção de ratos propensos e resistentes à obesidade. A dieta proposta foi constituída por leite condensado (15,5%), amendoim (18,5%), farinha de soja (20%), óleo de milho (6%), ração Bio Tec (30%) e bolacha Wafer de chocolate (10%). Essa dieta teve por base a desenvolvida por Nascimento (2005), com a introdução de farinha de soja no lugar da caseína. A mistura resultante foi peletizada e submetida à análise bromatológica. Verificou-se que a dieta apresentava 5,31 Kcal/g, com a seguinte composição: 22,3% de gordura, 22,2% de proteína, 15,9% de fibra, estimando-se 35,7% de carboidrato. O emprego da farinha de soja no lugar da caseína reduziu o custo da fonte protéica em torno de 96% por quilo de dieta manipulada. Quanto a sua eficácia, foi capaz de selecionar ratos propensos e resistentes a obesidade. Ratos propensos à obesidade, alimentados por 87 dias com a dieta hipercalórica apresentaram peso corpóreo, gorduras retroperitoneal, periepididimal e gorduras totais significativamente maiores do que animais resistentes à obesidade ( $P < 0,05$ ). A eficiência alimentar foi similar nos dois grupos ( $P > 0,05$ ), embora o consumo dos animais propensos fosse maior do que os resistentes. Concluímos que a dieta hipercalórica manipulada mostrou-se de baixo custo e apropriada para ser utilizada na identificação de animais propensos e resistentes à obesidade.

## **INTRODUÇÃO**

A obesidade já é considerada uma epidemia mundial, cujas causas são atribuídas aos hábitos modernos, como consumo de alimentos altamente calóricos e sedentarismo, associados à predisposição genética do indivíduo. Muitas enfermidades, como hipertensão, diabetes, doenças cardiovasculares, apnéia, neoplasias, doenças endócrinas e problemas pulmonares, estão relacionadas ao sobrepeso (PEREIRA et al., 2003; KORNER & ARONNE, 2003).

Por esse motivo, a obesidade se tornou alvo de muitos trabalhos científicos e hoje é extensamente estudada, sendo que muitos dos estudos experimentais exigem o emprego de dietas altamente energéticas (HARRIS, 1994; ESTEVE et al., 1994; AKIYAMA et al., 1996; CHANG et al., 1990; WOODS et al., 2002; DUARTE et al., 2001; ESTADELLA et al., 2004; DUARTE et al., 2006).

A utilização de dietas de alta densidade energética pode ser justificada pelo fato de que a dieta, associada à predisposição genética, seja um modelo mais realista e apropriado para estudos da obesidade do que modelos alterados geneticamente (FESTING, 1979; YORK, 1992; MÁRQUEZ-LOPES et al., 2004).

Muitas dietas são manipuladas na tentativa de se alcançar os índices de gordura e açúcar ideais para indução da obesidade em animais de laboratório. Estudos apontam que a dieta hiperlipídica é importante na etiologia da obesidade, levando a um excesso de peso em cães, suínos, esquilos, e ratos (WILLET, 1998). A exposição prolongada a dietas ricas em gordura, que resulta em balanço energético positivo e obesidade em certos roedores, tem sido considerada modelo adequado de obesidade humana (ESTADELLA et al., 2004).

No entanto, ao se propor uma dieta experimental hiperlipídica deve ser levado em consideração não só a quantidade de calorias, mas também suas características físicas e de palatabilidade. De fato, existem evidências de que as propriedades físicas da dieta podem influenciar no consumo de alimentos. Embora alimentos pastosos, com alto teor de gordura e carboidratos, e alimentos hidratados sejam muito bem aceitos pelos ratos (LUCAS et al., 1989, ACKROFF et al., 2005), deve-se levar em conta o hábito alimentar dos

animais, principalmente em experimentos de longo prazo. Assim, é importante que ratos, por serem roedores, sejam alimentados com *pellets*, para que mantenham seu hábito alimentar e não passem a apresentar comportamentos indesejáveis, como o de roer partes da gaiola de manutenção. A peletização de ração tem sido utilizada, mesmo em experimentos que empregam dieta de cafeteria (NASCIMENTO et al., 2005 e DUARTE et al. 2006), na qual diversos alimentos com alto teor energético ficam disponíveis, ao mesmo tempo, para serem escolhidos pelos animais (ESTEVE et al., 1994).

A alta palatabilidade da dieta hiperlipídica é considerada um dos fatores desencadeadores da hiperfagia dos animais tratados com esse tipo de ração (PRENTICE, apud PEREIRA et al., 2003). No entanto, existem diferenças na preferência alimentar entre ratos propensos e resistentes à obesidade. De fato, ratos Osborne-Mendel, propensos a desenvolver a obesidade, tem maior palatabilidade por alimentos ricos em gordura, enquanto os ratos S5B/PL, resistentes a desenvolver a obesidade com dieta rica em gordura, preferem alimentos com alto conteúdo de carboidrato (GREENBERG et al., 1999). Também dentro de uma população de animais aparentemente homogênea, cujos indivíduos não tenham sofrido manipulação genética, é possível observar consumo diferenciado (CHANG et al., 1990).

Mesmo com a escolha de uma dieta altamente palatável e calórica, em diversos trabalhos, os resultados esperados são garantidos somente após longos períodos de tempo, sejam os animais alimentados por sistemas de cafeteria (ESTEVE et al., 1994; DUARTE et al., 2001) ou mesmo por períodos contínuos de dietas hipercalóricas (WOODS et al., 2002; DUARTE et al., 2006).

As dietas hiperlipídicas mais freqüentemente utilizadas são formuladas com o acréscimo de itens lipídicos e calóricos à ração padrão. Entre esses itens está o amendoim, acrescido de leite condensado, bolacha tipo “wafer”, caseína, premix mineral, premix vitamínico e óleo (NASCIMENTO et al., 2005) ou acrescido de chocolate ao leite e biscoito tipo “maizena” (ESTADELLA et al., 2004; DUARTE et al., 2006). O uso dessas dietas tem levado ao pronunciado ganho de peso corpóreo e aumento das gorduras

retroperitoneal, periepididimal e de carcaça (ESTADELLA et al, 2004; NASCIMENTO et al., 2005; DUARTE et al., 2006).

Porém, em trabalhos com emprego de dieta hiperlipídica observa-se que nem todos os animais se tornam obesos, apenas um grupo apresenta peso e parâmetros metabólicos alterados, característicos de obesidade (NASCIMENTO et al, 2005).

Esse fato é coerente com a informação de que numa mesma população de ratos é possível distinguir animais propensos e resistentes à obesidade. MacLEAN et al (2004) propuseram identificar animais propensos e resistentes à obesidade após uma semana de tratamento com dieta de alto conteúdo de gordura. Depois deste período de tratamento, os animais são separados em 3 subgrupos de acordo com o ganho de peso obtido. O terço superior é considerado propenso à obesidade e o terço inferior, resistente à obesidade. Os animais propensos ganham mais peso e acumulam mais tecido adiposo do que os animais resistentes à obesidade, com a continuidade do tratamento.

Existem muitas dietas hiperlipídicas formuladas para indução de obesidade (HARRIS, 1994; ESTEVE et al, 1994; AKIYAMA et al, 1996; WOODS et al, 2002; ESTADELLA et al, 2004; NASCIMENTO et al, 2005). Na maioria, a caseína é um dos componentes utilizado como fonte protéica (HARRIS, 1994; WOODS et al, 2002, NASCIMENTO, 2005). Contudo, sua utilização torna a dieta de alto custo.

Um outro problema a ser enfrentado é a rejeição de dieta hiperlipídica única pelos animais, que muitas vezes leva os pesquisadores à utilização da dieta de cafeteria. No entanto, em estudos de funções gastrointestinais, que é a linha de nosso laboratório, é necessária a manutenção de uma mesma dieta, uma vez que os processos de digestão e absorção podem se alterar em função do nutriente ingerido.

Tendo em vista o interesse na utilização de ração de preço mais acessível e a dificuldade de se obter 100% de ratos obesos no final do tratamento, desenvolvemos uma dieta hiperlipídica, tendo farinha de soja como fonte protéica, para seleção e estabelecimento de ratos propensos e resistentes à obesidade. Além desses requisitos, a dieta deveria ser palatável e não rejeitada à curto prazo pelo animal.

Portanto, nosso objetivo foi determinar o efeito da dieta sobre a ingestão de alimentos, ganho de peso, eficiência alimentar e depósitos de gorduras retroperitoneal, periepídídimal, de carcaça e total.

## **MATERAIS E MÉTODOS**

### ***Manipulação da dieta***

A manipulação da dieta foi realizada no dietário no Laboratório Experimental do Departamento de Clínica Médica-UNESP-Botucatu. A dieta proposta foi baseada na formulada por Nascimento (2005), com a introdução de farinha de soja como fonte protéica. Portanto, a dieta foi constituída por leite condensado, amendoim, farinha de soja, óleo de milho, ração para Roedores Bio Tec®, bolacha de chocolate tipo Wafer, na proporção indicada na *Tabela 1*. O amendoim foi torrado em forno e posteriormente triturado. A ração Bio Tec® e a bolacha Wafer também foram trituradas previamente.

Todos os ingredientes foram misturados numa misturadeira elétrica. Para cada 12 Kg de dieta manipulada, foi adicionado 700 ml de água. Após a mistura, a dieta pastosa foi colocada numa máquina peletizadora (*Figura 1*). Os *pellets* formados foram então colocados na estufa por período de 24 horas para secagem.

***Tabela 1. Constituição da dieta hiperlipídica***

<b><i>Ingredientes</i></b>	<b><i>(%)</i></b>
Amendoim	18,5
Bolacha Wafer	10,0
L. Condensado	15,5
Farinha de soja	20,0
Óleo de milho	6,0
Ração Bio-Tec	30,0

A ração peletizada foi submetida à análise bromatológica, segundo método de WEENDE (AOAC, 1990), no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP-Botucatu. A quantidade de calorias foi determinada por bomba calorimétrica no laboratório de Química do Departamento de Bioquímica do Instituto de Biociências UNESP-Botucatu. A dieta foi ofertada a ratos Wistar, inicialmente na seleção de animais propensos e resistentes à obesidade e, depois, ao longo do tratamento.



*Figura 1. Manipulação da dieta.*

### **Grupo Experimental**

Para a seleção, 48 ratos Wistar machos, com 54 dias de idade, pesando em média  $258,43 \pm 28$ g, foram alimentados *ad libitum* com dieta hiperlipídica (*Tabela 1*) por um período de 7 dias, após o qual foi avaliado o ganho de peso dos animais. Os 16 animais que ganharam mais peso (terço superior) foram classificados como propensos à obesidade, enquanto os 16 animais que ganharam menos peso (terço inferior) foram classificados como resistentes (CHANG, 1990; MACLEAN et al, 2004).

Após a seleção, os animais de ambos os grupos foram alimentados *ad libitum* por 80 dias com a dieta hiperlipídica (*Figura 2B*).

Durante todo o experimento, os animais foram mantidos em gaiolas individuais (*Figura 2A*), em ambiente com controle de temperatura ( $24 \pm 2^\circ$  C) e fotoperíodo (12h:12h), com livre acesso à água e à dieta hiperlipídica (*Figura 2C*). O peso corpóreo foi quantificado semanalmente e o consumo, de 3 em 3 dias. Após 10 semanas de

fornecimento da dieta, foi calculada a eficiência alimentar abrangendo todo o período experimental.



*Figura 2. Manejo dos animais.*

#### ***Quantificação do tecido adiposo***

Após sacrifício dos animais, por decapitação, o abdômen foi aberto, as vísceras e as gorduras periepídimal e retroperitoneal foram retiradas e pesadas. Em seguida, o conteúdo de gordura de carcaça foi determinado gravimetricamente, após extração pelo método de JANSEN et al (1966).

#### ***Análise Estatística***

Os grupos foram comparados por teste t, para duas amostras independentes. O nível de significância adotado foi de 5%.

**RESULTADOS*****Análise bromatológica da dieta***

Através da análise bromatológica foi verificado que a dieta apresentava 5,31 Kcal/g, com a seguinte composição: 22,3% de gordura, 22,2% de proteína, 15,9% de fibra, estimando-se 35,7% de carboidrato (*Tabela 2*).

***Tabela 2 – Composição bromatológica da dieta hiperlipídica.***

<b><i>Composição</i></b>	<b><i>(%)</i></b>
Gordura	22,3
Proteína	22,2
Carboidrato*	35,7
Fibra	15,9
Cinzas	3,9
Calorias	5,31 Kcal/g

\* Estimativa

***Custo da ração***

O emprego da farinha de soja no lugar da caseína reduziu o custo da fonte protéica em torno de 96%, por quilo de dieta manipulada, visto que o quilograma da caseína custa em torno de R\$ 82,00 e o quilograma de farinha de soja em torno de R\$ 3,60.

***Ganho de peso em animais selecionados como propensos e resistentes à obesidade.***

O ganho de peso, após consumo de dieta hiperlipídica por uma semana, foi diferente entre os grupos selecionados quanto à propensão (P) e resistência (R) à obesidade (*Tabela 3*). O grupo propenso (P) apresentou maior ganho de peso em gramas e em porcentagem do que o grupo resistente (R) à obesidade ( $P < 0,05$ ).

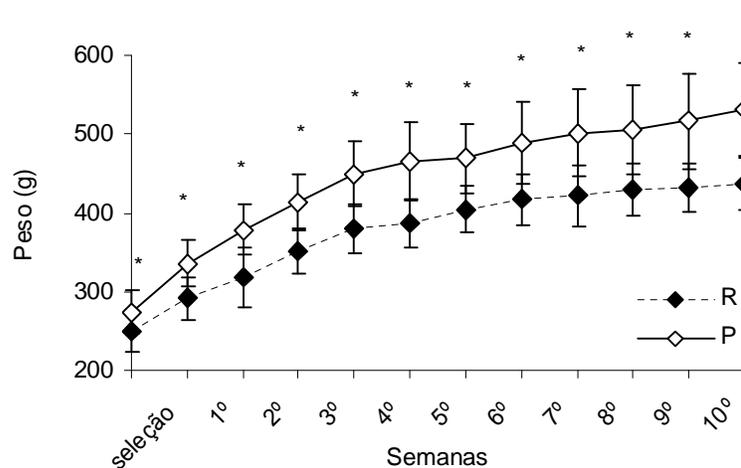
**Tabela 3.** Ganho de peso corpóreo em animais selecionados quanto à propensão (P) e resistência a obesidade (R).

Grupos	Ganho de peso (g)	Ganho de peso (%)
<b>P (n=16)</b>	61,38 ± 7,6 <sup>a</sup>	22,58 ± 3,5 <sup>a</sup>
<b>R (n=16)</b>	42,61 ± 8,2 <sup>b</sup>	16,11 ± 4,7 <sup>b</sup>

Médias seguidas de letras diferentes, em cada coluna, diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

### Peso corpóreo durante o tratamento com dieta hiperlipídica por 10 semanas

Ao longo das 10 semanas de tratamento com a dieta hiperlipídica, os grupos propenso e resistente à obesidade apresentaram peso corpóreo diferenciado, sendo o peso dos animais propensos superiores aos dos animais resistentes à obesidade em todos os momentos aferidos,  $P < 0,05$  (Figura 3).



**Figura 3.** Média ± desvio padrão do peso corpóreo (g) de animais propensos (P) e resistentes (R) à obesidade. Asteriscos indicam diferença significativa entre grupos ( $P < 0,05$ ).

Ao final do tratamento, o grupo propenso apresentou peso corpóreo médio de 530,6±58 g que foi estatisticamente maior do apresentado pelo grupo resistente, 436,7±33.

O ganho de peso desde o início do consumo da dieta hiperlipídica, totalizando 11 semanas, foi de 256,24±40 g para os animais propensos e de 187,84 ±35 g para os animais resistentes, uma diferença também estatisticamente significativa,  $P<0,05$ .

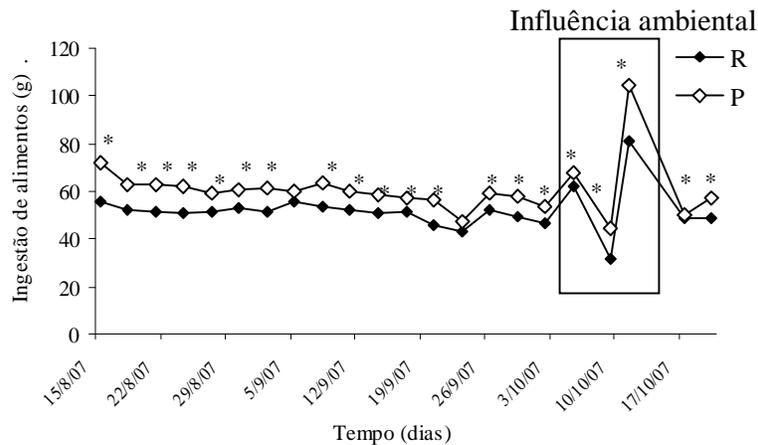
***Ingestão de alimentos e eficiência alimentar considerando as 10 semanas de dieta hipercalórica.***

Os animais propensos à obesidade apresentaram maior ingestão total de alimento,  $P<0,05$ , do que os animais resistentes à obesidade (*Tabela 4*). Ambos os grupos apresentaram pequena variabilidade na ingestão da dieta durante o tratamento, exceto quando o biotério teve problema com o controle de temperatura e os animais ficaram expostos ao frio, apresentando maior consumo neste período (*Figura 4*). Quanto à eficiência alimentar, não foi observado diferença ( $P>0,05$ ) entre os grupos no final do tratamento (*Tabela 4*).

***Tabela 4.*** Ingestão de alimentos total e Eficiência alimentar em animais propensos (P) e resistentes (R) à obesidade tratados durante 10 semanas com dieta hiperlipídica.

<b>Grupos</b>	<b>Ingestão alimentar total (g)</b>	<b>Eficiência alimentar (ganho de peso/ingestão)</b>
<b>P (n=16)</b>	1385,94±122 <sup>a</sup>	0,13± 0,02 <sup>a</sup>
<b>R (n=16)</b>	1192,94± 99 <sup>b</sup>	0,12± 0,02 <sup>a</sup>

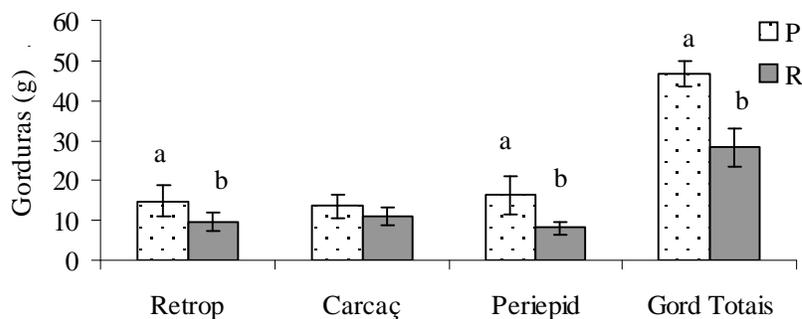
*Médias seguidas de letras diferentes, em cada coluna, diferem entre si ( $P<0,05$ ).*



**Figura 4.** Média  $\pm$  desvio padrão da ingestão alimentar (g) ao longo do tempo de animais propensos (P) e resistentes (R) à obesidade. Consumo acumulado a cada 3 dias. Asteriscos indicam diferença significativa entre grupos ( $P < 0,05$ ).

#### Quantificação de tecido adiposo considerando 87 dias de dieta hiperlipídica

A comparação entre grupos (Figura 5), considerando as gorduras retroperitoneal, periepididimal e a soma de todas elas (gorduras retroperitoneal, periepididimal e de carcaça), mostrou que o grupo propenso apresentou maior valor ( $P < 0,05$ ) do que os animais resistentes.



**Figura 5.** Peso em gramas das gorduras retroperitoneal, de carcaça, periepididimal e soma das gorduras. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre grupos ( $P < 0,05$ ), P= Ratos propensos e R= Ratos resistentes.

**DISCUSSÃO**

A dieta hiperlipídica, manipulada com farinha de soja como fonte protéica, permitiu a identificação de animais propensos (P) e resistentes (R) à obesidade, como relatado na literatura quando do emprego de dietas com outras composições (CHANG et al, 1990; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; COMMERFORD et al, 2001; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2002; LEVIN et al, 2003; MacLEAN et al, 2004; TKAES & LEVIN, 2004).

O maior peso corpóreo, de gorduras totais, gordura periepididimal e retroperitoneal apresentado pelo grupo propenso são sinais indicadores de que a dieta permitiu o desenvolvimento do fenótipo obeso. O aumento desses mesmos tecidos foi observado em trabalhos similares da literatura (LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; COMMERFORD et al, 2001; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2002; LEVIN et al, 2003; MACLEAN et al, 2004; TKAES & LEVIN, 2004).

A pequena variabilidade na ingestão, dentro de cada grupo, em maior parte do tempo de tratamento, revela que a dieta foi bem aceita e que é palatável para os animais tratados. Esse resultado reforça a viabilidade do emprego da dieta por nós formulada em estudos de obesidade, uma vez que não provoca inibição da ingestão. De fato, já foi demonstrado que a dieta hiperlipídica pode levar à diminuição da ingestão, uma vez que a saciedade é mais rapidamente alcançada e que o tempo de saciação é maior (HIMAYA et al, 1997).

A soja tem sido introduzida na alimentação de humana, sendo seus produtos inclusive utilizados na preparação de dietas enterais (MONTEIRO et al., 2004). Seu uso se justifica principalmente pelo alto valor nutritivo devido ao conteúdo de proteínas adequadas às necessidades nutricionais de adultos.

Também na ração animal, a soja e seus sub-produtos tem sido grandemente utilizados, tendo a vantagem de baratear o custo das rações. Inicialmente utilizada na alimentação de animais ruminantes, passou a ser usada também para animais monogástricos (SILVA et al., 2006), com os cuidados necessários para neutralizar os fatores antinutricionais presentes no grão não processado, como o fator inibidor de tripsina. De fato, no processamento, como o que ocorre na extração de óleo, que gera

---

---

*Artigo I – Discussão / Referências Bibliográficas*

---

---

como subproduto a farinha de soja, ocorre a neutralização dos fatores antinutricionais (SILVA et al., 2006).

Em trabalho comparando rações para ratos, manipuladas com grãos ou com farinha de soja, foi verificado que a última apresenta maior conteúdo protéico e menor teor energético e que a digestibilidade de proteína em ambas é de 88%, valor estatisticamente diferente da digestibilidade da caseína, que é de 96,5% (SILVA et al., 2006). No entanto, não existem trabalhos que relatam o uso de farinha de soja em dietas hipercalóricas.

Com relação à composição da dieta, verificamos que foi possível alcançar níveis de 20% de gordura e 20% de proteína, valores semelhantes ao das dietas utilizadas por outros pesquisadores, que variam entre 20 a 32,7% de gordura (CHANG et al., 1990, LEVIN et al, 2003; DUARTE et al., 2006) e 20 a 29,3% de proteína (CHANG et al., 1990 e DUARTE et al., 2006).

Concluimos que a dieta proposta pode ser utilizada como alternativa às dietas hipercalóricas encontradas na literatura, uma vez que promoveu o ganho de peso e de tecido gorduroso de animais propensos, além de não diminuir a ingestão de alimentos. Além do mais, o emprego de farinha de soja como fonte protéica, no lugar de caseína, permitiu significativa redução do custo da dieta.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ACKROFF, K.;LUCAS, F.; SCLAFANI, A. Flavor preference conditioning as a function of fat source. **Physiology & Behavior**, v.85, p. 448-460, 2005.
- AKIYAMA, T. et al. Hight-fat hipercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. **Diabetes Research and Clinical Praticce**, v.31, p.27-35, 1996.
- CHANG, B. GRAHAM, F. YAKUBU, D. LIN, J. C. PETERS and J. O. HILL. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. **American Journal of Physiology- Regulatory Integrative & Comparative**, v.259, p. 1103-1110,1990.

---

---

*Artigo I – Referências Bibliográficas*

---

---

- COMMERFORD SR, PAGLIASSOTTI MJ, MELBY CL, WEI Y, HILL JO. Inherent capacity for lipogenesis or dietary fat retention is not increased in obesity-prone rats. **American Journal Physiology Regulation Integrative Comparative Physiology**, v.280(6), p.1680-1687, 2001.
- DUARTE, A.C.G.O.; FONSECA, D.F.; SOAVE. C.F.; FIORESE, M.S.; DÂMASO, A.R. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Revista de Nutrição**, v.19, 2006.
- DUARTE, F.O. ; BERNADES, D. ; SENE, M.O. ; VENDRAMINI, R. C. ; BIDINOTTO, P. . Dieta hipercalórica no desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas em ratos adultos. In: **Congresso de Pós-Graduação da UFSCar**, São Carlos - SP, 2001.
- ESTADELLA, D.; OYAMA, L.M.; DÂMASO, A.R.; RIBEIRO, E.B.; OLLER, C.M. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v.20, p.218-224, 2004.
- ESTEVE, M et al. Effect of a Cafeteria Diet on Energy Intake and Balance in Wistar Rats. **Physiology & Behavior**, v.56, p.65-71, 1994
- FESTING, M.F.W. The inheritance of obesity in animal models of obesity. In: **Animal models of obesity** ( MFW, ed), p.15-37. London: Oxford University Press ,1979.
- GREENBERG, D.; MCCAFFERY, J.; POTACK, J.Z.; BRAY, G.A.; YORK, D.A. Differential satiating effects of fats in the small intestine of obesity-resistant and obesity- prone rats. **Physiology & Behavior**, v.66, p.621-626, 1999.
- JANSEN, G.R.; ZANETTI, M.E.; HUTCHISON, C.F. Studies in lipogenesis in vivo. Fatty acid and cholesterol synthesis during starvation and refeeding. **Biochemistry**, v.101, p.811-818, 1966.
- HARRIS, R.B.S. Factors influencing energy intake of rats fed either a high-fat or a fat mimetic diet. **International Journal of obesity**, v.18, p.632-540, 1994.
- HIMAYA et al Satiety power of dietary fat: a new appraisal. **American Journal Clinical Nutrition**, v.65, p.1410-1418, 1997.
- KORNER, J; ARONNE, L.J. The emerging science of body weight regulation and its impact on obesity treatment. **Journal Clinical Invest**, v 111, p.565-570, 2003.

---

---

*Artigo I – Referências Bibliográficas*

---

---

- LEVIN, B.E.; AMBROSE, DUNN-MEYNELL, A.D.M, RICCI, M.R.; CUMMINGS, D.E. Abnormalities of leptin and ghrelin regulation in obesity-prone juvenile rats. **American Journal Physiology - Endocrinology Metabolism**, v.285, p.949-957, 2003.
- LEVIN, B.E. & DUNN-MEYNELL, A.D.M. Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats. **American Journal Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.278, p.R231-R237, 2000.
- LEVIN, B.E. & DUNN-MEYNELL, A.D.M. Defense o body weght depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. **American Journal Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 282, p.R46-R54, 2002.
- LUCAS, F., ACKROFF, K., SCLAFANI, A. Dietary fat-induced hyperphagia in rats as a function of fat type and physical form. **Physiology & Behavior**, v.45(5), p.937-46, 1989.
- MACLEAN, P.S.; HIGGINS, J.A.; JOHNSON, G.C.; FLEMING-ELDER, B.K; PETERS, J.C.; HILL, J.O. Metabolic adjustments with the development, treatment, and recurrence of obesity in obesity-prone rats. **American Journal Physiology Regulation Integrative Comparative Physiology** , v.287, p. R288-R297, 2004.
- MARQUES-LOPES, I; MARTI. A.; MORENO-ALIAGA. A. Aspectos genéticos da obesidade. **Revista Nutrição**, Campinas, v.17(3), p.327-338, 2004.
- MONTEIRO, J.B.R.; COSTA, N.M.B.; MILAGRES, E.K.H. Avaliação da qualidade protéica de dois formulados em pó, à base de soja enriquecidos com zinco, selênio e magnésio para utilização em nutrição enteral. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v.24, p.6-10, 2004.
- NASCIMENTO, A.F. et al. Modelo de dieta hipercalórica para indução de obesidade. In: **XI congresso brasileiro de obesidade**, v. 49., 2005, Rio de Janeiro. **Arquivos Brasileiros de endocrinologia e metabologia**. São Paulo: Tec art editora Ltda, 2005. p. S528-S528, 2005.

---

---

*Artigo I – Referências Bibliográficas*

---

---

- PEREIRA, L.O; FRANCISCHI R.P; LANCHI A.H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**,v.47, p.111-127, 2003.
- SILVA, M.S.; NAVES, M.M.V.; OLIVEIRA, R.B.O.; LEITE, S.M. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Ciência tecnologia de alimentos**, v.26, p.571-576, 2006.
- TKAES, N. C.; LEVIN, B.E Obesity-prone rats have preexisting defects in their counterregulatory response to insulin-induced hypoglycemia. **American Journal Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.287, p. 1110-1115, 2004.
- WEENDE, . A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 15<sup>ed</sup>. Arlington, Virginia, Washington, 128p,1990.
- WILLET, W. Is dietary fat a major determinant of body fat? **American Journal Clinical Nutrition**,v.67, p.556-62, 1998.
- WOODS, S. C.; SEELEY, R.J.; RUSHING, P.A; DÁLESSIO, D. TSO, P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **American Society for Nutritional Sciences**. v.133, p.1081-1087, 2003.
- YORK DA. Genetic models of animal obesity . In: **Obesity** (Björntorp P, Brodoff BN, editors), p. 233-40, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, EUA, 1992.

**Trato gastrointestinal de ratos propensos e resistentes à obesidade e a resposta à restrição alimentar**Cabeço, L.C.<sup>1</sup>; Sartori, D.R.<sup>1</sup>; Pinheiro, D.F.<sup>1</sup>; Vicentini-Paulino, M. L.M.<sup>1</sup><sup>1</sup>*Departamento de Fisiologia, UNESP, Botucatu, 18618-000, São Paulo, Brazil***RESUMO**

Numa população heterogênea de ratos é possível selecionar animais resistentes e propensos à obesidade, que apresentam diferenças intrínsecas como no depósito de gordura e em parâmetros metabólicos, endócrinos e neurais. No entanto, as características do trato gastrointestinal desses animais e suas respostas à restrição alimentar são pouco estudadas. O objetivo deste trabalho foi, portanto, estudar parâmetros morfofuncionais do trato gastrointestinal de animais propensos e resistentes à obesidade e avaliar os efeitos da restrição alimentar sobre tais parâmetros.

Para tanto, ratos com 54 dias de idade foram inicialmente selecionados quanto à propensão e resistência à obesidade. Em seguida, todos os animais foram alimentados com dieta hiperlipídica por 10 semanas, após as quais os animais propensos (P) e resistentes à obesidade (R) foram divididos, sendo metade de cada grupo alimentado *ad libitum* (controle) e a outra metade restrito em 55% do ingerido pelo seu controle. Os grupos formados foram: PC = Propenso Controle; PR = Propenso Restrito; RC = Resistente Controle e RR = Resistente Restrito. Foram analisados a atividade enzimática intestinal (maltase e sacarase) e pancreática (lipase), digestibilidade de nutrientes, eficiência alimentar, peso corporal e peso de órgãos do trato gastrointestinal. Também foram quantificadas as gorduras de carcaça, periepídimal e retroperitoneal. A comparação entre grupos P e R foi feita por teste t e entre os grupos PC, PR, RC e RR, por ANOVA, seguida de teste Tukey, com  $P < 0,05$ . O grupo propenso apresentou maior ingestão de alimentos, maior ganho de peso e maior peso corpóreo ao final do tratamento do que os resistentes. A eficiência alimentar foi similar nos dois grupos ( $P > 0,05$ ). Quanto aos parâmetros gastrointestinais analisados, foi verificado que apenas o intestino delgado e o fígado apresentaram diferenças de peso em função da propensão e resistência à obesidade, bem como em resposta à restrição. Porém, as respostas

---

---

*Artigo II - Resumo*

---

---

ocorreram na mesma intensidade em propensos e resistentes, sendo proporcionais ao peso corpóreo. A quantidade de gordura foi diferente entre propenso e resistente e em ambos houve diminuição da gordura total, periepídídima e de carcaça em resposta à restrição. Concluímos que animais propensos e resistentes apresentam diferenças nas dimensões dos órgãos gastrointestinais que, na sua maioria, guardam relação com as diferenças de peso corpóreo. Exceção a isso, foram os intestinos delgado e grosso, cujos comprimentos relativos são maiores em animais resistentes. Concluímos também que não existem diferenças entre animais propensos e resistentes quando comparadas as respostas do trato gastrointestinal à restrição alimentar.

## **INTRODUÇÃO**

Numa população de ratos submetidos à dieta hipercalórica é possível identificar, por meio de quantificação do ganho de peso, um grupo de animais propenso e outro resistente à obesidade, que apresentam diferenças na ingestão de alimentos e na deposição de gordura corpórea (CHANG,1990; MACLEAN et al., 2004b). Na população humana, esse fenômeno, também é observado (BLUNDELL et al., 2005).

Estudos experimentais realizados com esses grupos têm apontado alterações metabólicas, endócrinas, neurais e comportamentais como causa e consequência dessas diferenças. Animais propensos apresentam sensibilidade reduzida à leptina e à insulina, menor taxa de oxidação de gordura, maior eficiência metabólica, maior depósito de gordura retroperitoneal, periepídídima, mesentérica e de carcaça, maior peso corpóreo, além de palatibilidade aumentada para alimentos ricos em gordura quando comparados aos animais resistentes a obesidade (CHANG, 1990; LEVIN & KEESEY, 1998; GREENBERG et al., 1999; COMMENFORD et al., 2000; COMMENFORD et al., 2001; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; LEVIN et al., 2003; LEVIN et al., 2004; MACLEAN et al., 2004a ; MACLEAN et al., 2004b; CLEGG et al., 2005; DOURMASHKIN et al., 2006). No entanto, até o presente momento, não foi considerado o possível envolvimento do trato gastrointestinal nas alterações apresentadas por esses dois grupos.

Isso é surpreendente quando é sabido que o trato gastrointestinal é um sistema complexo e dinâmico capaz de se alterar conforme a demanda nutricional e sofrer ajustes morfofuncionais quando submetido a alterações na quantidade e qualidade da dieta (KARASOV et al., 1992; McWILLIAMS & KARASOV, 2001; PIERSMA & DRENT, 2003; NAYA & BOZINOVIC, 2006).

De fato, o trato gastrointestinal não apresenta um padrão estável de funcionamento, podendo variar suas funções digestivas e absorptivas em função da alteração no número e especificidade de enzimas e transportadores, além de dimensões dos órgãos (FERRARIS et al., 2000).

Assim, tem sido relatado aumento da expressão de enzimas intestinais e pancreáticas, proporcional à presença de nutrientes do lúmen intestinal (KARASOV &

---

---

*Artigo II – Introdução/ Materiais e Métodos*

---

---

HUME, 1997). Também, tem sido observadas respostas adaptativas à restrição alimentar que levam à preservação das funções gastrointestinais.

Assim, já foram observados, em resposta à restrição alimentar, aumento da digestibilidade aparente de proteína (VERNON et al., 1981) e aumento da atividade de lactase e sacarase (ZARLING & MOBARHAN, 1987) em ratos, além de aumento do transporte de glicose e frutose por miligrama de tecido intestinal em camundongos (BUTZNER et al., 1996; FERRARIS et al., 2000).

Também foi verificado que o peso dos órgãos do trato gastrointestinal se mantém à despeito da restrição alimentar e da perda de peso corpóreo (CASSIROLA et al., 1996; FERRARIS & DIAMOND, 1997; FERRARIS et al., 2000)

Porém, pouco se sabe sobre a influência da restrição alimentar sobre a flexibilidade fenotípica do sistema gastrointestinal em animais propensos e resistentes a obesidade. Estudos já apontam, nestes dois grupos, diferenças nas respostas metabólicas e na deposição de gorduras frente à restrição alimentar (LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; MACLEAN et al., 2004a; MACLEAN et al., 2004b). Acreditamos que alterações nas funções digestivas podem contribuir para o estabelecimento de diferenças de peso corpóreo e do tecido adiposo quando se comparam animais propensos e resistentes submetidos à restrição alimentar.

Nossa hipótese é de que animais propensos e resistentes à obesidade apresentam diferenças no sistema gastrointestinal e nas respostas deste sistema à restrição alimentar. Para testá-la, analisamos a atividade de enzimas intestinais e pancreática, a digestibilidade de nutrientes, as dimensões dos órgãos do trato gastrointestinal, a ingestão de alimentos e a eficiência alimentar.

### ***MATERIAIS E MÉTODOS***

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fisiologia do Sistema Digestório do Instituto de Biociências/UNESP-Botucatu, em 3 etapas consecutivas.

**Fase 1 . Seleção de animais propensos e resistentes à obesidade.**

**Fase 2 . Manutenção de animais em dieta hiperlipídica por 10 semanas.**

**Fase 3 . Restrição alimentar por 10 dias.**

Durante todo o experimento, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com controle de temperatura ( $24 \pm 2^\circ \text{C}$ ) e de fotoperíodo (12h:12h) e com livre acesso à água.

### **Delineamento Experimental**

**Fase 1. Seleção de animais propensos e resistentes à obesidade.**

Foram utilizados dois grupos de 16 animais, selecionados quanto à propensão e resistência à obesidade. Para a seleção, 48 ratos Wistar machos com 54 dias de idade e com peso corpóreo médio de  $258,43 \pm 28\text{g}$  foram alimentados *ad libitum* com dieta hiperlipídica (*Tabela 1*) por um período de 7 dias, após o qual foi avaliado o ganho de peso dos animais. Os 16 animais que ganharam mais peso (terço superior) foram classificados como propensos à obesidade (P), enquanto os 16 animais que ganharam menos peso (terço inferior) foram classificados como resistentes (R). O grupo com ganho de peso intermediário, entre o terço superior e inferior, não foi utilizado no experimento (CHANG, 1990; MACLEAN et al., 2004b).

**Fase 2. Manutenção de animais em dieta hiperlipídica por 10 semanas.**

Após a seleção, os animais de ambos os grupos foram alimentados *ad libitum* por 10 semanas com dieta hiperlipídica, 5,31 Kcal/g (*Tabela 2*). Durante esse período, o peso corporal dos animais foi quantificado semanalmente e o consumo alimentar a cada 3 dias. Foi avaliada também a eficiência alimentar total final. Dez dias antes do período de restrição, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas para adaptação.

**Fase 3. Restrição alimentar por 10 dias**

Após as 10 semanas de tratamento, cada grupo foi subdividido em 2 outros: um alimentado com dieta hipercalórica *ad libitum*, como controle, e outro restrito em 55% do consumido pelo seu controle. Os grupos ficaram assim constituídos:

## *Artigo II – Materiais e Métodos*

Grupo PC (Propenso Controle): animais propensos à obesidade alimentados *ad libitum* com dieta hiperlipídica (n=8); Grupo PR (Propenso Restrito): animais propensos à obesidade aos quais foram oferecidos 45% da quantidade da dieta hiperlipídica consumida pelo controle (n=8); Grupo RC (Resistente Controle): animais resistentes à obesidade alimentados *ad libitum* com hiperlipídica (n=8); Grupo RR (Resistente Restrito): animais resistentes à obesidade aos quais foram oferecidos 45% da quantidade da dieta hiperlipídica consumida pelo controle (n=8). O consumo de alimento foi quantificado diariamente e os ratos pesados no 1º, 5º e 10º dia de restrição. Os animais de todos os grupos foram sacrificados 10 dias após o início da restrição. Os parâmetros avaliados foram: peso corpóreo, ganho de peso, ingestão de alimentos, eficiência alimentar, atividade da enzimas lípase pancreática e das enzimas maltase e sacarase intestinais e digestibilidade de nutrientes. Também foram determinados os pesos de órgãos gastrointestinais, das gorduras retroperitoneal, periepididimal, de carcaça e totais (a soma de todas elas). Os resultados desses últimos são apresentados em valores absolutos e valores relativos ao peso corpóreo.

### *Dieta Hipercalórica*

A dieta hipercalórica (5,31 Kcal/g) utilizada teve seus ingredientes baseados em dieta proposta por Nascimento (2005), com a substituição de caseína por farinha de soja e com alteração nas proporções dos ingredientes. A manipulação e peletização da dieta foram feitas no Laboratório de Clínica Médica Experimental da Faculdade de Medicina de Botucatu. Os constituintes da dieta hipercalórica estão apresentados na *Tabela 1* e a composição calórica e bromatológica, na *Tabela 2*.

***Tabela .1 Constituintes da dieta***

<b><i>Ingredientes</i></b>	<b><i>(%)</i></b>
Amendoim torrado	18,5
Bolacha Wafer	10,0
Leite Condensado	15,5
Farinha de soja	20,0
Óleo de milho	6,0
Ração Bio-Tec	30,0

***Tabela.2 Análise bromatológica***

<b><i>Composição</i></b>	<b><i>(%)</i></b>
Gordura	22,3
Proteína	22,2
Carboidrato*	35,7
Fibra	15,9
Cinzas	3,9
Calorias	5,31 Kcal/g

\* *Estimativa*

***Parâmetros avaliados***

- *Medidas de órgãos do sistema gastrointestinal*

Após sacrifício por decapitação, foram retirados estômago, intestinos delgado e grosso, pâncreas e fígado para determinação de peso de todos os órgãos e do comprimento dos intestinos. Antes das medidas, os três primeiros órgãos foram lavados internamente com solução fisiológica 0,9%. Após, o estômago e o intestino grosso foram descartados e os demais utilizados em diferentes análises.

- *Dissacaridases intestinais (maltase e sacarase)*

A mucosa do intestino delgado foi raspada com o auxílio de uma lâmina de vidro e acondicionada em frascos previamente identificados, sendo imediatamente após estocada em *freezer* a -20°C. A determinação das dissacaridases foi realizada de acordo com o método de DAHLQVIST (1964) que consiste, resumidamente, em determinar a quantidade de glicose formada a partir da incubação, em banho-maria, da mucosa intestinal com um substrato conhecido (maltose ou sacarose). A atividade enzimática foi determinada por meio do kit de glicose enzimático LABORLAB e a leitura foi feita por espectrofotômetro a 505 nm.

- *Lipase Pancreática*

O pâncreas de cada animal foi congelado em nitrogênio líquido e estocado a -20°C para posterior análise. Para a determinação da atividade da lipase pancreática (EC 3.1.1.3) o pâncreas foi inicialmente descongelado e, após, homogeneizado em água na proporção de 1/20 e centrifugado. Uma alíquota do sobrenadante, de 0,025 ml, foi novamente diluída em 0,5 ml de água e então utilizada na análise. A atividade da lipase foi determinada por método colorimétrico (SARDA & DESNUELLE, 1958), no qual a lipase hidroliza o tioéster produzindo um tioálcool, que reage com ácido nitrobenzóico liberando um ânion de cor amarela. A intensidade da coloração é proporcional à concentração da enzima. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 421 nm.

- *Digestibilidade de nutrientes*

Foram feitas coletas totais de fezes para determinação da digestibilidade dos nutrientes durante três dias que antecederam o sacrifício. As amostras de fezes coletadas foram secas em estufa de circulação forçada, a 55°C, até atingir peso constante. Após esse procedimento, chamado de pré-secagem, as amostras foram mantidas por 24 horas

---



---

*Artigo II – Materiais e Métodos/ Resultados*

na temperatura ambiente para atingir o equilíbrio com a umidade atmosférica e serem novamente pesadas.

Em seguida, amostras de fezes secas e de ração foram moídas para determinação da digestibilidade aparente de extrato etéreo, proteína bruta, matéria seca, fibra, segundo método de WEENDE (AOAC, 1990). O cálculo da digestibilidade aparente foi obtido seguindo a fórmula abaixo (ANDRIGUETTO *et al.*, 1989):

$$DA = \left[ \frac{1 - \text{nutriente das fezes} \times \text{MS fezes}}{\text{nutriente da dieta} \times \text{MS dieta}} \right] \times 100$$

onde DA = digestibilidade aparente

MS = matéria seca

- *Eficiência alimentar:*

O coeficiente de eficiência alimentar foi calculado segundo a fórmula:  $(P_f - P_i) / \Sigma IA$ , onde:  $P_f$  = Peso no final do experimento,  $P_i$  = Peso no início do experimento, IA = ingestão de alimentos

- *Quantificação de gorduras:*

Após sacrifício dos animais, por decapitação, o abdômen foi aberto, as vísceras e as gorduras periepídidimal e retroperitoneal foram retiradas e pesadas. Em seguida, o conteúdo de gordura de carcaça foi determinado gravimetricamente, após extração pelo método de JANSEN *et al.* (1966).

- *Análise Estatística*

A comparação entre grupos propensos e resistentes foi feita por meio do teste t para duas amostras independentes. Na comparação entre os 4 grupos formados por animais propensos controles, propensos restritos, resistentes controles e resistentes restritos foi utilizada análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 0,05.

## **RESULTADOS**

### ***Fase 1 . Seleção de animais propensos e resistentes à obesidade***

Na comparação entre ganho de peso, foi observado que o valor médio alcançado pelo terço de animais que apresentaram maior resposta (propensos) foi estatisticamente

diferente do observado no terço que apresentou menor resposta (resistentes). Os valores de peso corpóreo obtidos antes e após seleção, bem como o ganho de peso estão apresentados na *Tabela 3*.

**Tabela 3.** *Peso corpóreo e Ganho de peso em animais selecionados quanto à propensão (P) e resistência (R) à obesidade.*

<b>Grupos</b>	<b>Peso Inicial (g)</b>	<b>Peso Final (g)</b>	<b>Ganho de peso (g)</b>	<b>Ganho de peso (%)</b>
<b>P (n=16)</b>	274,4 ± 28 <sup>a</sup>	335,8 ± 28 <sup>a</sup>	61,4 ± 7,6 <sup>a</sup>	22,6 ± 3,5 <sup>a</sup>
<b>R (n=16)</b>	248,9 ± 24 <sup>b</sup>	291,5 ± 26 <sup>b</sup>	42,6 ± 8,2 <sup>b</sup>	16,1 ± 4,7 <sup>b</sup>

*Médias seguidas de letras diferentes, em cada coluna, diferem entre si (P<0,05).*

### **Fase 2 . Manutenção de animais em dieta hiperlipídica por 10 semanas**

No final do tratamento de 10 semanas, o peso corpóreo do grupo propenso foi maior (P<0,05) do que do resistente (*Tabela 4*). Também foram observados maior ganho de peso (P<0,05) e maior ingestão alimentar (P<0,05) pelos animais propensos (*Tabela 4*). No entanto, não houve diferença (P>0,05) entre a eficiência alimentar de ambos os grupos (*Tabela 4*).

**Tabela 4.** *Peso corpóreo, Ingestão de alimentos e Eficiência alimentar em animais propensos (P) e resistentes (R) à obesidade tratados com dieta hiperlipídica.*

<b>Grupos</b>	<b>Peso Inicial (g)</b>	<b>Peso Final (g)</b>	<b>Ganho de peso (g)</b>	<b>Ingestão alimentar (g)</b>	<b>Eficiência alimentar</b>
<b>P (n=16)</b>	335,8±28 <sup>a</sup>	530,5±58 <sup>a</sup>	194,8±39 <sup>a</sup>	1385,9±122 <sup>a</sup>	0,13± 0,02 <sup>a</sup>
<b>R (n=16)</b>	291,5±26 <sup>b</sup>	436,7±33 <sup>b</sup>	145,2±34 <sup>b</sup>	1192,9± 99 <sup>b</sup>	0,12± 0,02 <sup>a</sup>

*Médias seguidas de letras diferentes, em cada coluna, diferem entre si (P<0,05).*

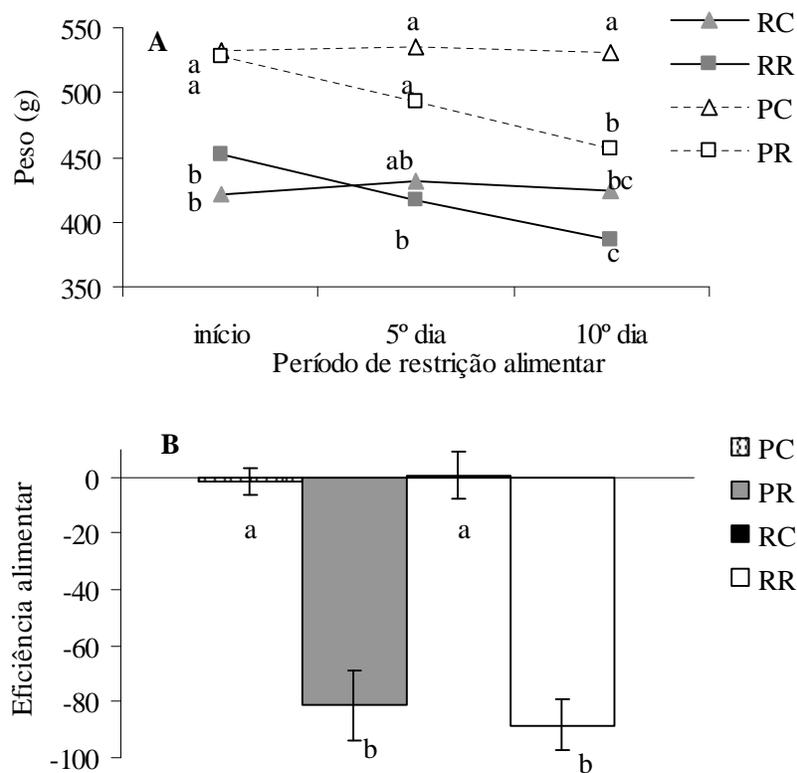
### **Fase 3 . Restrição alimentar por 10 dias**

#### *Peso corpóreo e eficiência alimentar*

Ambos os grupos, propenso e resistente à obesidade (PR e RR), apresentaram significativa diminuição do peso corpóreo (P<0,05) em resposta à restrição alimentar

(Figura 1A). Contudo, essa diminuição não se apresentou diferente entre os dois grupos ( $P>0,05$ ), uma vez que ambos perderam em torno de 13 % do peso corpóreo.

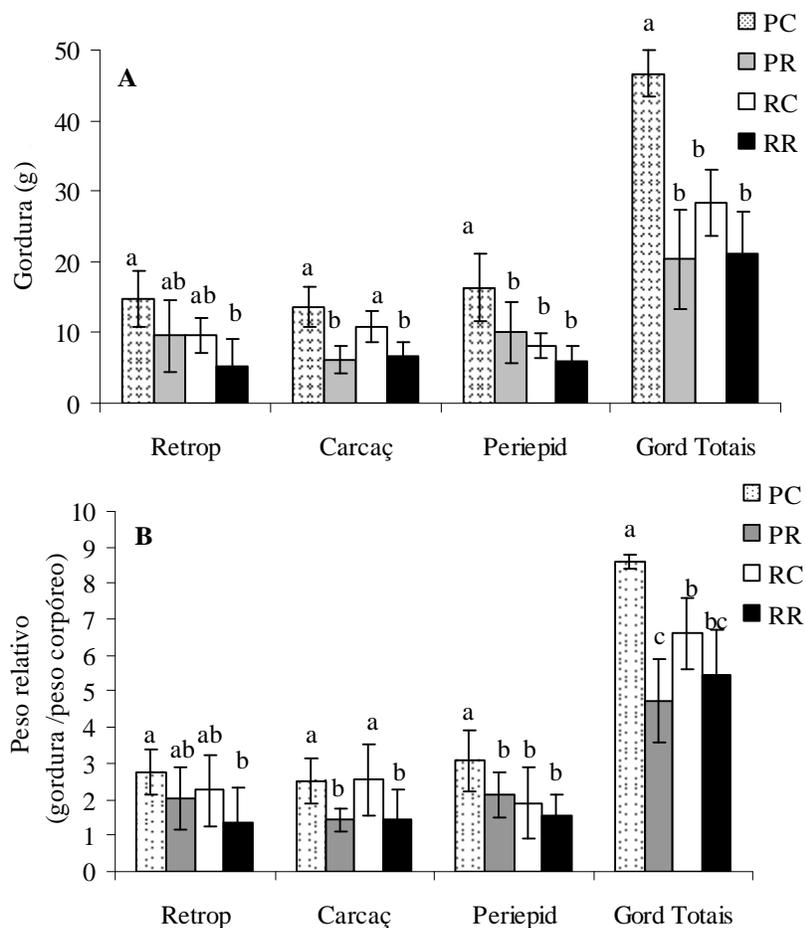
Quanto à eficiência alimentar referente ao período total de restrição alimentar, foi observado redução significativa ( $P<0,05$ ) nos grupos restritos (PR e RR), sem haver diferença entre eles ( $P>0,05$ ). Os animais controles (PC e RC) também não apresentaram diferença ( $P>0,05$ ) entre si (Figura 1B).



**Figura 1.** Efeito da restrição alimentar de 55% sobre o peso corpóreo (A) e a eficiência alimentar (B). Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos ( $P<0,05$ ). PC= Ratos propensos controles, PR= Ratos propensos submetidos à restrição alimentar de 55%, RC= Ratos resistentes controles e RR= Ratos resistentes submetidos à restrição alimentar de 55%.

### Depósitos de gordura

A comparação entre grupos (Figura 2A), considerando o total das gorduras estimadas (retroperitoneal, periepididimal e de carcaça somadas), mostrou que o grupo propenso controle apresentou maior valor ( $P < 0,05$ ) do que os demais, que não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ).



**Figura 2.** Peso absoluto (A) e Peso relativo (B) das gorduras retroperitoneal, de carcaça, periepididimal e soma das gorduras. Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos (ANOVA e TUKEY,  $P < 0,05$ ). PC= Ratos propensos controles, PR= ratos propensos submetidos à restrição alimentar de 55%, RC= Ratos resistentes controles e RR= Ratos resistentes submetidos à restrição alimentar de 55%.

Quando foi feita a comparação entre os diferentes tecidos adiposos (*Figura 2A*), houve diferença estatística significativa entre os grupos propenso e resistente controles (PC e RC) apenas para a gordura periepididimal, sendo o maior valor apresentado pelos animais propensos ( $P < 0,05$ ). O grupo propenso restrito (PR) apresentou redução do peso desse tipo de gordura na restrição alimentar de 55%, enquanto isso não foi observado no grupo de animais resistente restrito (RR).

A gordura de carcaça foi igual ( $P > 0,05$ ) para os dois grupos controles (PC e RC), porém maior que dos grupos restritos (PR e RR), que não diferiram entre si. Resultado semelhante foi obtido na comparação entre as gorduras relativas de carcaça (*Figura 2B*).

A comparação entre grupos, considerando o total das gorduras relativas estimadas (retroperitoneal, periepididimal e de carcaça somadas), mostrou que o grupo propenso controle apresentou maior valor ( $P < 0,05$ ) do que os demais grupos. A restrição provocou diminuição de peso relativo de gorduras totais somente no grupo propenso (PR), não havendo diferença entre grupos controle e restrito quando avaliados os animais resistentes.

#### *Peso absoluto e relativo dos órgãos do trato gastrointestinal*

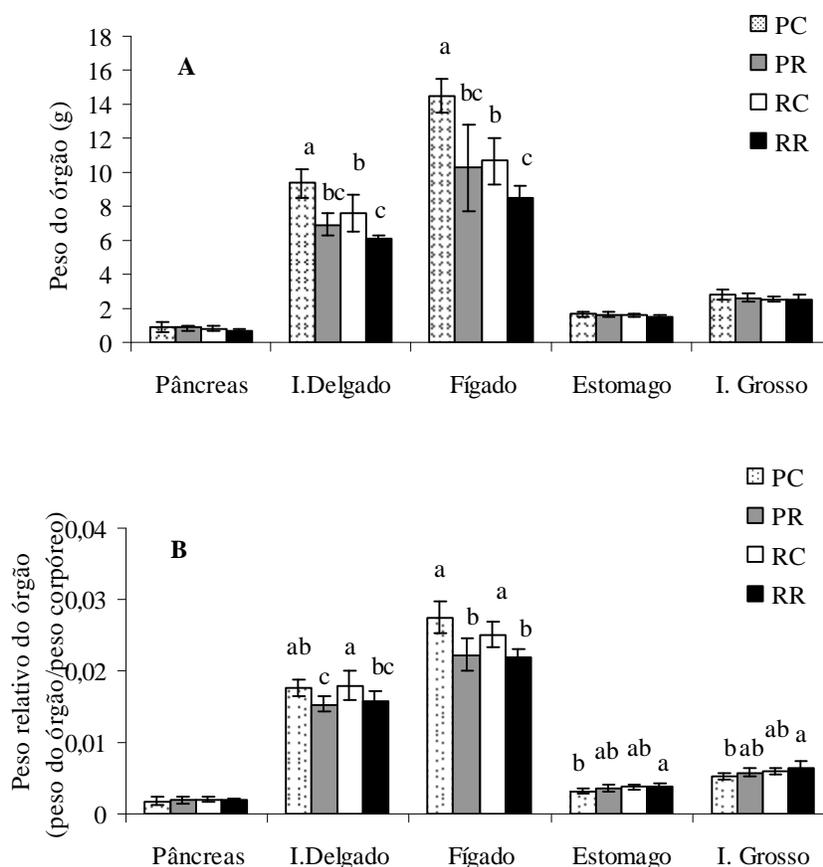
Não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ) do peso absoluto do pâncreas, do estômago e do intestino grosso entre os grupos propensos e resistentes à obesidade submetidos (PR e RR) ou não (PC e RC) à restrição alimentar (*Figura 3A*). Já o intestino delgado do grupo propenso controle (PC) foi maior ( $P < 0,05$ ) que o do grupo resistente (RC). No entanto, nos grupos que sofreram restrição de 55% foi observada a diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) do peso intestinal nos dois grupos (PR e RR).

Foi observado maior peso do fígado no grupo propenso (PC) quando comparado ao grupo resistente (RC), sendo que a restrição provocou diminuição de peso ( $P < 0,05$ ) desse órgão em ambos os grupos restritos (PR e RR; *Figura 3A*).

Quando os órgãos de cada grupo foram relacionados ao peso corpóreo (*Figura 3B*) houve diferenças estatísticas entre grupos para todos os órgãos, exceto para o pâncreas. O peso relativo do intestino delgado foi similar entre os grupos controle (PC e

RC), similar entre grupo propenso (PC) e resistente restrito (RR) e similar entre grupo propenso e resistente restritos (PR e RR).

O peso relativo do fígado não diferiu entre os grupos controles (PC e RC), sendo maior ( $P<0,05$ ) que dos grupos restritos (PR e RR). O peso relativo do estômago e do intestino grosso foi menor ( $P<0,05$ ) nos grupos propenso controle (PC), propenso restrito (PR) e resistente controle (RC), sendo iguais entre si (Figura 3B).

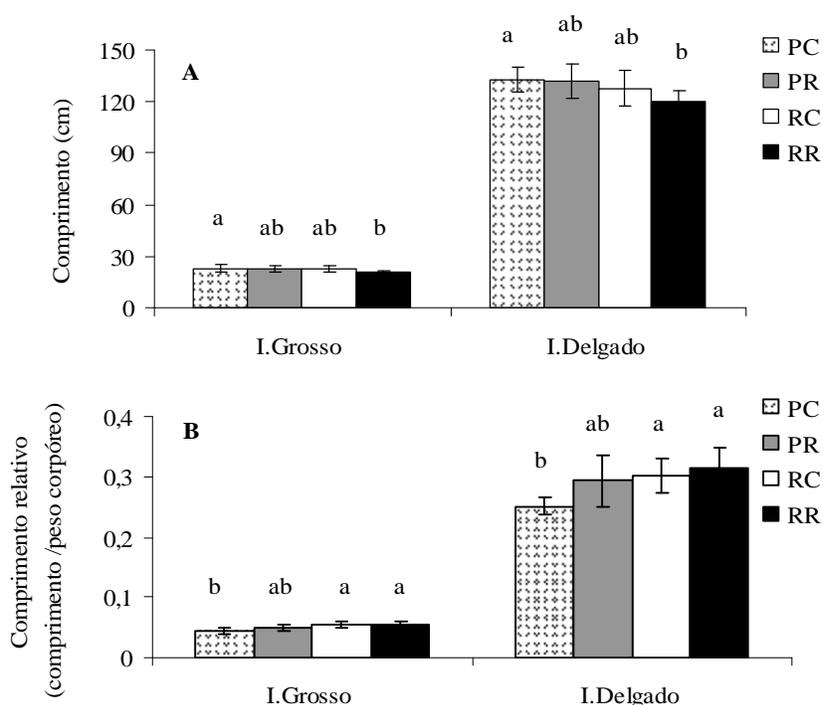


**Figura 3.** Peso absoluto (A) e relativo (B) dos órgãos do trato gastrointestinal. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre grupos (ANOVA e TUKEY,  $P<0,05$ ). PC= Ratos propensos controles, PR= ratos propensos submetidos à restrição alimentar de 55%, RC= Ratos resistentes controles e RR= Ratos resistentes submetidos à restrição alimentar de 55%.

### Comprimento absoluto e relativo dos intestinos grosso e delgado

O comprimento do intestino grosso e delgado (Figura 4A) do grupo propenso controle (PC) foi igual ao do grupo resistente (RC),  $P > 0,05$ , sendo que ambos os grupos não foram afetados pela restrição alimentar (PR e RR),  $P > 0,05$ .

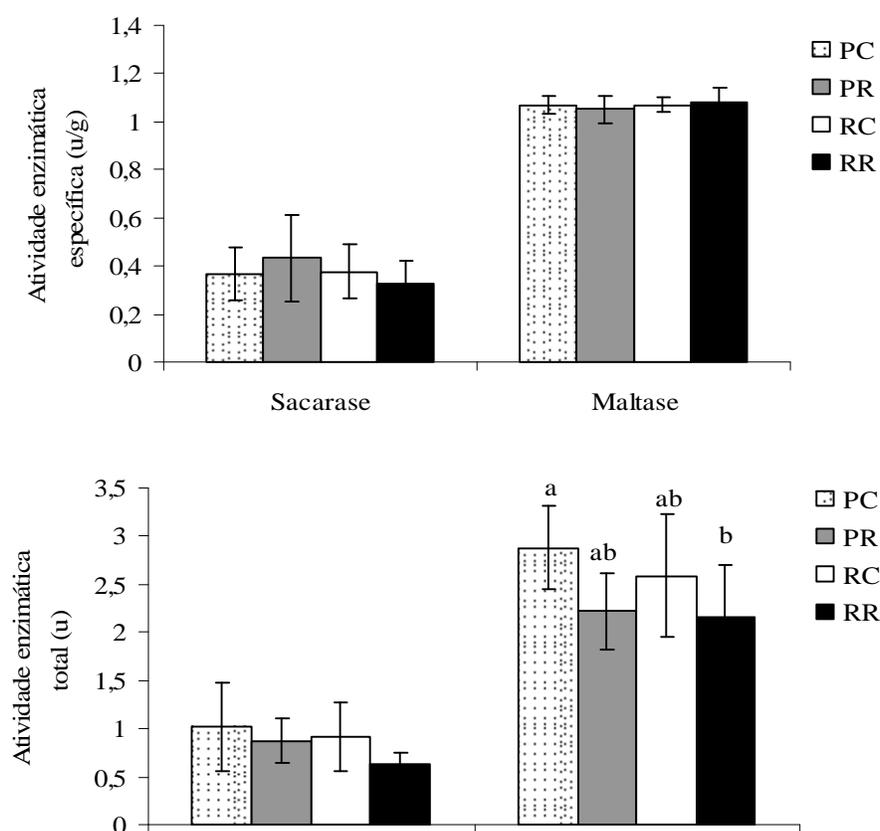
Houve diferença ( $P < 0,05$ ) do comprimento relativo de intestino grosso e delgado quando comparados os grupos controles propenso (PC) e resistente (PR). A restrição não afetou este parâmetro (Figura 4B).



**Figura 4.** Comprimento absoluto (A) e relativo (B) dos intestinos grosso e delgado. Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos (ANOVA e TUKEY,  $P < 0,05$ ). PC= Ratos propensos controles, PR= ratos propensos submetidos à restrição alimentar de 55%, RC= Ratos resistentes controles e RR= Ratos resistentes submetidos à restrição alimentar de 55%.

### Atividade enzimática intestinal (Maltase e Sacarase)

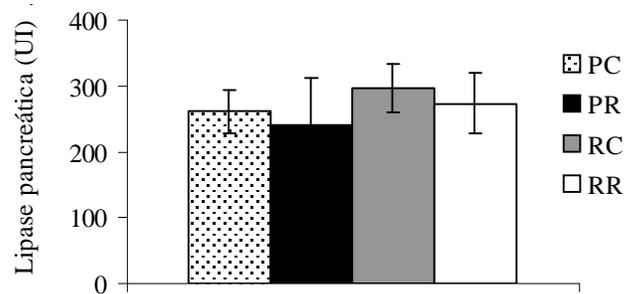
A atividade enzimática específica da sacarase e da maltase (Figura 5A), expressas em unidade por grama de mucosa intestinal (u/g), não diferiu entre os grupos estudados ( $P>0,05$ ). Quando foi determinada a atividade enzimática total (Figura 5B), considerando o peso total da mucosa, não foi observada diferença estatística entre o grupo propenso e resistente controle ( $P>0,05$ ).



**Figura 5.** Atividade enzimática específica (u/g), em unidade por grama de mucosa intestinal, (A) e Atividade enzimática total (u), por peso da mucosa total em gramas (B). Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos (ANOVA e TUKEY,  $P<0,05$ ). PC= Ratos propensos controles, PR= ratos propensos submetidos à restrição alimentar de 55%, RC= Ratos resistentes controles e RR= Ratos resistentes submetidos à restrição

*Atividade enzimática pancreática (lipase).*

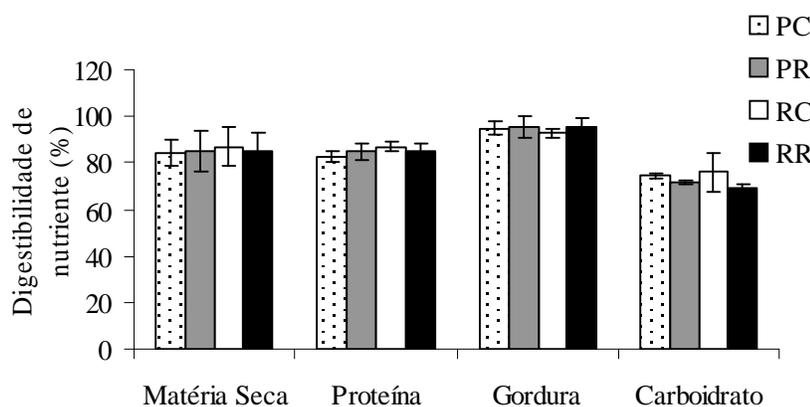
Não houve diferença significativa entre grupos ( $P>0,05$ ) para atividade da lipase pancreática (UI) (Figura 6). Também não foi observada diferença entre grupos ( $P>0,05$ ), quando foi determinada a atividade enzimática total (UI x peso pâncreas).



**Figura 6.** Atividade da lipase pancreática (UI). PC= Ratos propensos controles, PR=ratos propensos submetidos à restrição alimentar de 55%, RC=Ratos resistentes controles e RR= Ratos resistentes submetidos à restrição alimentar de 55%.

*Efeito sobre a digestibilidade de nutrientes.*

Não houve diferença significativa entre grupos ( $P>0,05$ ) para digestibilidade de matéria seca, proteína, gordura e carboidrato estimado (Figura 7).



**Figura 7.** Digestibilidade de nutrientes. PC= Ratos propensos controles, PR= ratos propensos submetidos à restrição alimentar de 55%, RC= Ratos resistentes controles e RR= Ratos resistentes submetidos à restrição alimentar de 55%.

**DISCUSSÃO**

No presente trabalho foram observadas diferenças significativas entre animais propensos e resistentes à obesidade, quanto à ingestão de alimentos, peso corpóreo e quantidade de tecido gorduroso, parâmetros estes que caracterizam o estabelecimento da obesidade.

De fato, os animais propensos à obesidade, tratados com a dieta hipercalórica com alto teor de gordura durante 10 semanas, apresentaram maior consumo alimentar, maior ganho de peso e maior peso corpóreo do que os animais selecionados como resistentes. A resposta de massa corporal confirma dados da literatura que evidenciam respostas diferenciadas entre animais que, tratados com uma mesma dieta, desenvolvem diferentes fenótipos e podem ser identificados como propensos ou resistentes à obesidade (CHANG et al, 1990; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; COMMERFORD et al, 2000; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2002; LEVIN et al, 2003; MACLEAN et al, 2004 a e b; TKAES & LEVIN, 2004).

Os resultados obtidos de aumento de gordura total e periepídimal também reforçam as características diferenciadas de animais propensos e resistentes e são comparáveis aos achados da literatura (LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; COMMERFORD et al, 2000; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2002; LEVIN et al, 2003; MACLEAN et al, 2004 a e b; TKAES & LEVIN, 2004). Nossos resultados, diferentemente da literatura, não mostraram aumento de gorduras retroperitoneal e de carcaça, quando a análise considerou o conjunto dos quatro grupos, propensos controle e restrito e resistentes controle e restrito (CHANG et al, 1990; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000; COMMERFORD et al, 2001; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2002; LEVIN et al, 2003; MACLEAN et al, 2004; TKAES & LEVIN, 2004). Porém, a diferença na gordura retroperitoneal passa a ser significativa se a comparação for apenas entre os grupos controles, resistente e propenso, não envolvendo os grupos restritos. Isso pode indicar que interferências pontuais, como o número de animais e o conseqüente desvio da média tenham impedido que fosse alcançado o nível de significância estabelecido.

Embora o ganho de peso tenha sido diferente entre propensos e resistentes, a eficiência alimentar foi similar entre grupos. Ou seja, existe a mesma relação entre a

quantidade de alimento ingerido e o ganho de peso em ambos os grupos. Estes resultados indicam que a quantidade de alimento consumido, que foi diferente entre grupos, pode ter tido grande influência sobre o ganho de peso. Essa conclusão é diferente da apresentada por CHANG et al. (1990) que, ao avaliarem a eficiência energética (energia de carcaça/consumo energético) em animais propensos e resistentes, sugeriram que o consumo de dieta hipercalórica não era o único determinante para o rato se tornar obeso. Essa conclusão foi alcançada quando observaram que animais obesos, que apresentavam ganho de peso 68% maior, tinham uma eficiência 85% maior, paralela à uma ingestão 24% maior. Por outro lado, SEFICÍKOVÁ et al. (2008) atribuiu à ingestão de alimentos a diferença de obesidade entre ratos propensos e resistentes.

O aumento da ingestão apresentado pelos ratos propensos no presente trabalho, pode ter sido influenciado pela palatibilidade, uma vez que existem evidências de que animais propensos tem preferência por dietas ricas em gordura (DOURMASHKIN et al., 2006). De fato, também já foi verificado que ratos Osborne-Mendel, propensos a desenvolver obesidade, tem maior palatibilidade por alimentos ricos em gordura, enquanto os ratos S5B/PL, resistentes a desenvolver a obesidade quando alimentados com dieta rica em gordura, preferem alimentos com alto conteúdo de carboidrato (GREENBERG et al, 1999).

Além da palatibilidade, a maior ingestão alimentar no grupo propenso pode ser atribuída também ao controle da ingestão regulado pelo neuropeptídeo Y (NPY). Já foi verificado que a expressão de NPY está aumentada nos animais propensos à obesidade, o que provoca aumento do consumo de alimentos e diminuição da oxidação de gordura (LEVIN & KEESEY, 1998).

O efeito da restrição alimentar sobre peso corpóreo e tecido adiposo variou quando comparados animais propensos e resistentes à obesidade. A perda de peso foi semelhante em ambos os grupos, enquanto que a resposta dos tecidos adiposos foi diferente. De fato, embora ambos os grupos tenham alcançado pesos diferentes no final da restrição, a perda foi de aproximadamente 13% em cada grupo. Por outro lado, animais propensos apresentaram maior facilidade em perder gorduras totais e gordura periepidual do que os resistentes.

Resultado similar foi obtido em trabalho em que animais propensos e resistentes foram submetidos à restrição calórica de 50% por 14 semanas (LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2000). Nesse trabalho foi verificado que animais propensos, mas não os resistentes, apresentavam redução da leptina após restrição. Com base nesses achados, os autores concluíram que a redução de peso corpóreo nos resistentes se deve à redução da massa magra, uma vez que esses animais não apresentam diminuição dos níveis de leptina e que é sabido que os níveis desse hormônio são proporcionais à quantidade de tecido adiposo no organismo.

Em relação aos parâmetros gastrointestinais avaliados, foi observado que os grupos propensos e resistentes à obesidade (PC e RC) apresentam diferenças nas dimensões de alguns órgãos, mas não na atividade enzimática e na digestibilidade de nutrientes. Porém, a resposta à restrição alimentar se dá de forma similar nos dois grupos, sem evidenciar flexibilidade fenotípica das funções.

De fato, o peso absoluto do fígado e do intestino delgado foram maiores no grupo propenso controle (PC) em relação ao grupo resistente controle (RC), mas semelhantes entre si, quando considerados os pesos relativos. A restrição provocou diminuição desses órgãos tanto em animais propensos como em animais resistentes à obesidade, sendo a resposta proporcional à diminuição do peso corpóreo.

O aumento do peso do fígado pode ser atribuído à maior deposição de gordura nesse órgão. De fato, em ratas Zucker (obesas) foi observado aumento do peso do fígado, que foi acompanhado pelo aumento de gordura nesse órgão (GARCÍA-MARTINEZ et al, 1993). O acúmulo de gordura no fígado também foi observado em 76% de indivíduos obesos (BELLANTANI et al, 2000). Foi mostrado também que a deposição de gordura no fígado pode ocorrer rapidamente em ratos submetidos a 8 semanas de dieta hiperlipídica (GAUTHIER et al, 2003). Em outro trabalho, foi demonstrado que o peso do fígado guarda uma relação direta com o peso corpóreo, uma vez que não se observa aumento de peso relativo do fígado em ratos Sprague-Dawley, mesmo com alto teor de gordura hepática (LAVOIE et al, 2005).

Talvez, o maior peso do intestino delgado apresentado pelos ratos propensos possa ser atribuído à grande quantidade de gordura aderida à esse órgão, principalmente

gordura mesentérica. Porém, não podemos descartar uma resposta diferenciada, mesmo porque existem evidências de hiperplasia da mucosa em ratos obesos (ESTORNELL et al., 1995).

Também, já foi mostrado aumento do peso do pâncreas em ratas Zucker (fa/fa), com 3 meses de idade (SCHNEEMAN et al, 1983), um achado não corroborado pelos dados aqui apresentados. De fato, os pesos do pâncreas, do estômago e do intestino grosso não diferiram entre animais propensos e resistentes, nem mesmo após restrição.

Com relação ao comprimento dos intestinos, observamos resultados surpreendentes após restrição, principalmente quando os valores foram analisados em função do peso corpóreo. De fato, foi observado que o comprimento relativo dos intestinos grosso e delgado nos animais resistentes foram maiores do que em animais propensos à obesidade. Resultado similar, em que a resposta intestinal é maior em ratos resistentes à obesidade, foi observada por SEFICÍKOVÁ et al. (2008), em trabalho bastante recente. Esses autores verificaram aumento da atividade enzimática intestinal, induzido pela dieta, em animais resistentes à obesidade, mas não em animais propensos. Frente a esses resultados, os autores propuseram que a manutenção da obesidade em ratos propensos se devia a uma maior efetividade na absorção de nutrientes, embora não tivessem quantificado esse parâmetro.

Se assim for, poderíamos inferir que essa maior efetividade pode ocorrer sem correspondente aumento na extensão dos intestinos, já que não existe uma relação direta entre superfície e absorção, uma vez que os transportadores da membrana em escova não são fixos, podendo se alterar de acordo com a demanda nutricional (BUTS et al., 1993; SECOR et al, 1994).

A resposta enzimática observada por nós é coerente com a observada por MOZES et al (2004) que não encontrou alteração na atividade da maltase intestinal em ratos obesos tratados com glutamato monossódico. Porém, é contrária ao que seria esperado, quando se tem a informação de que as enzimas digestivas podem ser influenciadas pela composição da dieta e pela demanda nutricional (KARASOV & HUME, 1997). No presente trabalho, a demanda nutricional pode ser caracterizada pelo alto consumo de alimentos, conseqüente dos estímulos que levam à manutenção da

obesidade, como a resistência à leptina e a alteração do equilíbrio energético presentes nos animais obesos.

Coerente com a influência da dieta sobre a atividade enzimática são os achados de que a produção da maltase e sacarase intestinais aumenta de maneira proporcional à presença de carboidrato na dieta e que padrão semelhante de mudanças ocorre nos níveis das enzimas digestivas pancreáticas, proteases, amilase e lipase em resposta à presença de seus respectivos substratos (KARASOV & HUME, 1997).

Por outro lado, já foi demonstrado alteração de enzimas dissociada da presença do substrato específico, como a diminuição das dissacaridases intestinais pela presença de gordura na dieta (GODA & TAKASE, 1994a).

A proporção de gordura e de carboidratos na dieta podem ter contribuído para a resposta obtida no presente trabalho e para a diferença de resultados quando comparados com o realizado por SEFICÍKOVÁ et al. (2008), que encontraram resposta diferenciada de maltase entre animais propensos e resistentes. A maior proporção de carboidrato na dieta (55,5%) utilizada por estes autores, em relação à formulada por nós (35,5%), pode ter contribuído para que houvesse maior expressão de maltase que, assim, superaria a possível inibição exercida pela grande quantidade de gordura da dieta.

Também, na explicação das diferenças de resultados tem que se levar em consideração que a atividade da maltase no trabalho aqui realizado foi estimada com base na mucosa de todo o intestino delgado, enquanto o aumento observado por SEFICÍKOVÁ et al. (2008), refere-se exclusivamente ao jejuno, uma vez que tal resposta não foi observada no duodeno.

Não existem informações sobre a possível relação entre a preferência de ratos resistentes por alimentos ricos em carboidratos e a quantidade de maltase no intestino desses animais (DOURMASHKIN et al., 2006). No entanto, podemos aventar a hipótese de que esses animais, por serem metabolicamente mais ativos do que os propensos, necessitam ser mais eficientes na captação de carboidrato, uma fonte de energia mais prontamente utilizada do que a gordura. O aumento na digestão de carboidratos pelas dissacaridases intestinais contribuiria para maior absorção de carboidratos. É sabido também que ratos obesos Zucker apresentam menor transporte de glicose do que ratos normais (GARCIA-MARTINEZ et al., 1993).

A atividade enzimática nos animais aqui estudados, pode também ter sido influenciada pelas alterações morfofisiológicas do intestino, uma vez que foi demonstrado que a dieta hiperlipídica provoca diminuição da área de superfície das microvilosidades, com diminuição da quantidade de proteínas e da atividade das dissacaridasas (GODA & TAKASE, 1994b).

Na obesidade experimental alcançada por manipulação genética, foi verificado aumento de dissacaridasas em resposta à dieta rica em carboidrato. Por exemplo, foi observado aumento da maltase e da sacarase, paralelo ao aumento do tamanho intestinal, em ratos ob/ob tratados com dieta rica em dextrose (FLORES et al, 1986) e aumento da atividade da sacarase e maltase no jejuno de ratas Zucker (MATSUO et al, 1992).

Também as enzimas pancreáticas, diferentemente do que foi aqui observado, são aumentadas em animais geneticamente modificados. De fato, em ratas Zucker, a atividade enzimática da lipase, da amilase e da tripsina foram maiores do que em animais controles normais (SCHNEEMAN et al., 1983).

Quanto à digestibilidade de nutrientes, não diferiu entre grupos, demonstrando que animais propensos e resistentes, selecionados e tratados com dieta hiperlipídica, apresentam capacidade similar de digerir gordura, proteína e carboidrato. Não encontramos na literatura nenhum estudo da digestibilidade em animais obesos, para fazer comparação. No entanto, os resultados obtidos são coerentes com a resposta enzimática observada.

Chama a atenção o fato de que apenas intestino delgado e fígado sofreram efeito da restrição. Porém, a resposta ocorreu com a mesma intensidade em ambos os grupos, não caracterizando diferença na capacidade adaptativa entre propensos e resistentes.

A atividade enzimática, a digestibilidade e a eficiência alimentar não se alteraram com a restrição. Estas respostas diferem da obtida com animais alimentados com dieta padrão, nos quais a restrição é um estímulo para aumentar parâmetros associados a uma maior digestão e absorção de nutrientes. De fato, os trabalhos da literatura mostram aumento na atividade enzimática e na expressão de transportadores, além de hipertrofia

---

---

*Artigo II – Discussão/Referências bibliográficas*

---

---

mucosa em animais restritos (KARASOV & HUME, 1997). Ou seja, o trato, frente à restrição, aumenta sua capacidade de aproveitamento de alimentos, caracterizando uma flexibilidade fenotípica.

Talvez o tempo de restrição utilizado no presente trabalho não tenha sido suficiente para provocar adaptações. Diferenças significativas na adaptação intestinal já foram observadas quando comparadas restrição crônica e aguda sobre o transporte de nutrientes em camundongos (FERRARIS et al., 2000).

Também não podemos excluir a hipótese de que outras enzimas, que não foram estudadas, ou mesmo que os transportadores intestinais possam apresentar respostas diferentes das que foram encontradas e que poderiam contribuir para o estabelecimento da obesidade e para resposta à restrição.

A partir desse trabalho, concluímos que animais propensos e resistentes apresentam diferenças nas dimensões dos órgãos gastrointestinais que, na sua maioria, guardam relação direta com o peso corpóreo. Exceção a isso são os intestinos delgado e grosso, cujos comprimentos relativos são maiores em animais resistentes. Concluímos também que os tratos gastrointestinais de animais propensos e resistentes apresentam respostas similares à restrição alimentar.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I. **Nutrição Animal**. São Paulo, Nobel, v. 1, 1989.
- A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 1990, 15<sup>ed</sup>. Arlington, Virginia, Washington, v.128, 1990
- BELLANTANI, S.; SACCOCCIO, G. MASUTTI, F.; CROCE, L.S.; BRANDI, G.; SASSO, F.; CRISTANINI, G.; TIRIBELLI, C. Prevalence and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. **Annals Internal Medicine**, v.132, p.112-117, 2000.

---

---

*Artigo II – Referências Bibliográficas*

---

---

- BLUNDELL, J.E.; STUBBS, R.J.; GOLDING, C.; CRODEN, F.; ALAM, R.; WHYBROW, S.; NOURY, J.L.E, LAWTON, C.L. Resistance and susceptibility to weight gain: Individual variability in response to a high-fat diet. **Physiology & Behavior**, v.86, p.614-622, 2005.
- BUTS, J.P., KEYSER, N., KOLANOWSKI, J, SOKAL, E, VAN HOOFF, F. Maturation of villus and crypt cell functions in rat small intestine. **Digestive Diseases and Sciences**, v.38, p.1091-1098, 1993.
- BUTZNER, J.D., BROCKWAY, P.D, MEEDINGS, J.B. Effects of malnutrition on microvillus membrane glucose transport and physical properties. **American Journal Physiology**, v.259, p.940-946, 1990.
- CASSIROLA, D.M., RIFIKIN, B., TSAI, W., FERRARIS, R.P. (1996) Adaptations of intestinal nutrient transport to chronic caloric restriction in mice. **American Journal Physiology**, v. 271, p.192-200, 1996.
- CHANG, B. GRAHAM, F. YAKUBU, D. LIN, J. C. PETERS and J. O. HILL. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v. 259, p.1103-1110, 1990.
- CLEGG, D.J; BENOIT S.C; REED J.A; WOODS S.C; DUNN-MEYNELL A; LEVIN B.E. Reduced anorexic effects of insulin in obesity-prone rats fed a moderate fat diet. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative** v.288, p.R981-R986, 2005.
- COMMENFORD, S.R; PAGLIASSOTTI, M.J; MELBY C.L; WEI Y; GAYLES E.C; HILL J.O. Inherent capacity for lipogenesis or dietary fat retention is not increased in obesity-prone rats. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v.280, p.R1680-R1687, 2001.
- COMMENFORD, S.R; PAGLIASSOTTI, M.J; MELBY C.L; WEI Y; GAYLES E.C; HILL J.O. Fat oxidation, lipolysis, and free fatty acid cycling in obesity-prone and obesity and obesity-resistant rats. **American Journal of Physiology Endocrinology & Metabolism**, v. 279, p.E875-E885, 2000.

---

---

*Artigo II – Referências Bibliográficas*

---

---

- DAHLQUIST, A. Method for assay of intestinal disaccharidases. **Analytical Biochemistry**, v.7, p.447-54, 1964.
- DOURMASHKIN, J.T.; CHANG, G.Q.; HILL, J.O.; GAYLES, E.C.; FRIED, S.K.; LEIBOWITZ, S.F. Model for predicting and phenotyping at normal weight the long-term propensity for obesity in Sprague-Dawley rats. **Physiology & Behavior**, v.87, p.666-678, 2006
- ESTORNELL, E.; CABO, J.; BARBER, T. Protein synthesis is stimulated in nutritionally obese rats. **Journal of Nutrition**, v.125, p.1309-1315, 1995.
- FERRARIS, R.P.; DIAMOND, J. Regulation of intestinal sugar transport. **Physiological Reviews**, v. 77:p. 257-302, 1997.
- FERRARIS, R. P., CAO, Q.X., PRABHAKARAM, S .Chronic but not acute energy restriction increases intestinal nutrient transport in mice. **Journal Nutrition**, v.131, p. 779-786, 2000.
- FLORES, C.A.; BEZERRA, J.; BUSTAMANTE, S.; MACDONALD, M.P; KAPLAN, M. KOLDOVSKY, O. Effect of a high-dextrose diet on sucrase and lactase activity in jejunum of obese mice (C57BL/6J obob). **Journal American College Nutrition**, v.5, p.565-575, 1986.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, C.; LÓPEZ-SORIANO, J.; ARGILÉS, J.M. Intestinal glucose absorption is lower in obese than in lean Zucker rats. **Journal Nutrition**, v. 123, p. 1062-1067, 1993.
- GAUTHIER, M.S.; COUTURIER, K.; LATOUR, J.G.; LAVOIE, J.M. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. **Journal Applied Physiology**, v.94, p. 2127-2134, 2003.
- GODA, T.; TAKASE, S. Dietary Carbohydrate and fat independently modulate disaccharidase activities in rat jejunum. **Journal of Nutrition**, v.124, p.2233-2239, 1994a.
- GODA, T.; TAKASE, S. Effect of dietary fat content on microvillus in rat jejunum. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v.40, p. 127-136, 1994b.

---

---

*Artigo II – Referências Bibliográficas*

---

---

- GREENBERG, D.; MCCAFFERY, J.; POTACK, J.Z.; BRAY, G.A.; YORK, D.A. Differential satiating effects of fats in the small intestine of obesity-resistant and obesity-prone rats. **Physiology & Behavior**, v.66, p.621-626, 1999.
- JANSEN, G.R.; ZANETTI, M.E.; HUTCHISON, C.F. Studies in lipogenesis in vivo. Fatty acid and cholesterol synthesis during starvation and refeeding. **Biochemistry**, v.101, p.811-818, 1966.
- KARASOV, W. H. Tests of the adaptive modulation hypothesis for dietary control of intestinal nutrient transport. **American Journal of Physiology**, v.263, p.R496-502, 1992.
- KARASOV, W.; HUME, J.D. Handbook of Comparative physiology. In: Dantzler, w editor. Vertebrate gastrointestinal system. **American Physiology Society**, Capítulo 7, p. 409-480, 1997.
- LAVOIE, J.M.; YASARI, S.; ABDENNADHER, M.; PAQUETTE, A. Effect of alteration (10 days) of high-fat with normal diet on liver lipid infiltration, fat gain, and plasma metabolic profile in rats. **Physiology & Behavior**, v.85, p.442-448, 2005.
- LEVIN, B.E.; KEESEY, R.E. Defense of differing body weight set-points in diet-induced obese and resistant rats. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v. 274, p.412-419, 1998.
- LEVIN, B.E. & DUNN-MEYNELL, A.D.M. Defense of body weight depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v. 282, p.R46-R54, 2002.
- LEVIN, B.E. & DUNN-MEYNELL, A.D.M. Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v.278, R231-R237, 2000.
- LEVIN, B.E; DUNN-MEYNELL A.A; BANKS W.A. Obesity-prone rats have normal blood-brain barrier transport but defective central leptin signaling before obesity onset. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v.286, R143-R150, 2004.

---

---

*Artigo II – Referências Bibliográficas*

---

---

- LEVIN, B.E.; DUNN-MEYNELL, A.D.M.; RICCI, M.R.; CUMMINGS, D.E. Abnormalities of leptin and ghrelin regulation in obesity-prone juvenile rats. **American Journal Endocrinology Metabolic**, v. 285, p.E949-E957, 2003.
- MAcLEAN, P.S.; HIGGINS, J.A.; JOHNSON, G.C.; ELDER-FLEMING, B.K.; DONAHOO, W.T; MELANSON, E.L.; HILL, J.O. Enhanced metabolic efficiency contributes to weight regain after weight loss in obesity-prone rats. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v.287, p.R1306-R1315, 2004 a.
- MAcLEAN, P.S.; HIGGINS, J.A.; JOHNSON, G.C.; FLEMING-ELDER, B.K; PETERS, J.C.; HILL, J.O. Metabolic adjustments with the development, treatment, and recurrence of obesity in obesity-prone rats. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative**, v.287, p.R288-R297, 2004 b.
- MATSUO, T.; ODAKA, H.; IKEDA, H. Effect of intestinal disaccharidase inhibitor (AO-128) on obesity and diabetes. **American Journal Clinical Nutrition**, v55, p.314S-317S, 1992.
- McWILLIAMS, S.R; KARASOV, W.H. Phenotypic flexibility in digestive system structure and function in migratory birds and its ecological significance. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.128, p.579-593, 2001.
- MOZES, S.; SEFCIKOVÁ, Z.; LENHARDT, L.; RACEK, L. Effect of adrenalectomy on the activity of small intestine enzymes in monosodium glutamate obese rats. **Physiological Research**, v 53, p. 415-422, 2004.
- NASCIMENTO, A.F. et al. Modelo de dieta hipercalórica para indução da obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v.49, n.4 (suplemento 1), p.528-528, 2005
- NAYA, D.E.; BOZINOVIC, F. The role of ecological interactions on the physiological flexibility of lizards. **Functional Ecology**, v.20(4), p.601-608, 2006.
- PIERSMA, T; DRENT, J. Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. **Trends in Ecology and Evolution**, v.18, p.228-233, 2003.

---

---

*Artigo II – Referências Bibliográficas*

---

---

- SCHNEEMAN, B.O, INMAN, M.D; STERNAN, J.S. Pancreatic enzyme activity in obese and lean Zucker rats: A development study. **Journal Nutrition**, v.113, p.921-925, 1983.
- ŠEFČÍKOVÁ, Z.; HÁJEK, T; LENHARDT1, L., RAČEK, L. AND MOZEŠ, S. Different functional responsibility of the small intestine to high-fat/high-energy diet determined the expression of obesity-prone and obesity-resistant phenotypes in rats. **Physiological Research**, in press, 2008 .
- SECOR, S.M; STEIN, E.D; DIAMOND, J. Rapid upregulation of snake intestine in response to feeding: a new model of intestinal adaptation. **American Journal Physiology**, v. 266: p. 695-705, 1994.
- TKAES, N.; LEVIN, B.E. Obesity-prone rats have preexisting defects in their counterregulatory response to insulin-induced hypoglycemia. **American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.287, p. R1110-R1115, 2004.
- VERNON J. W.;SENIOR.W. Effects of food restriction and body weight loss on metabolic fecal nitrogen excretion in the rat. **Journal Nutrition**, v.111, p.:581-585, 1981.
- ZARLING, E.J.; MOBARHAN, S. Effect of restricting a balanced diet on rat intestinal disaccharidase activity and intestinal architecture. **Journal Laboratory Clinical Medicine**, v.109: p.556-559, 1987.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)