

## Efeitos de dieta hiperlipídica semi purificada em ratos

Effects of semi purified hyperlipidic diet in rats

Efectos de la dieta hiperlipídica semipurificada en ratas

Recebido: 18/05/2023 | Revisado: 30/05/2023 | Aceitado: 02/06/2023 | Publicado: 07/06/2023

**Carla Juliane Martins Rodrigues**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2259-0078>

Universidade de São Paulo, Brasil

E-mail: [cmartinsbehavior@gmail.com](mailto:cmartinsbehavior@gmail.com)

**Ana Paula da Silva Azevedo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8596-5906>

Centro Universitário Adventista de São Paulo, Brasil

E-mail: [nutriapds@gmail.com](mailto:nutriapds@gmail.com)

**Angela Conceição Vieira dos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6038-8727>

Centro Universitário Adventista de São Paulo, Brasil

E-mail: [angelavieira.nutri@gmail.com](mailto:angelavieira.nutri@gmail.com)

**Samara Gomes Almeida**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5113-2589>

Centro Universitário Adventista de São Paulo, Brasil

E-mail: [samara18pereira@gmail.com](mailto:samara18pereira@gmail.com)

**Andreza Chagas de Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7838-912X>

Centro Universitário Adventista de São Paulo, Brasil

E-mail: [andreza\\_cl@hotmail.com](mailto:andreza_cl@hotmail.com)

**Maria Fernanda Melo Lopes Ninahuaman**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4419-8384>

Centro Universitário Adventista de São Paulo, Brasil

E-mail: [fernanda\\_ninahuaman@hotmail.com](mailto:fernanda_ninahuaman@hotmail.com)

**Camila Mattos Rocha Olivieri**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9077-8101>

Centro Universitário Adventista de São Paulo, Brasil

E-mail: [camila.olivieri@acad.unasp.edu.br](mailto:camila.olivieri@acad.unasp.edu.br)

### Resumo

Doenças cardiovasculares são responsáveis por grande parte das mortes e causas de hospitalização no mundo, portanto há necessidade de expandir estudos experimentais com modelos animais induzindo dislipidemia por via alimentar a fim de verificar causas e tratamentos. Dietas formuladas com combinação de ingredientes purificados apresentam limitações por seu alto custo. Objetivou-se a elaboração de uma ração hiperlipídica semi purificada de baixo custo para a indução de dislipidemia em ratos. Utilizou-se 21 ratos wistar divididos em três grupos, alimentados durante quatro semanas com ração controle (RN), ração teste (HLT) e ração comercial (HLC). A HLT foi elaborada a partir da RN, banha suína e ovos. Durante o experimento foram avaliados consumo da ração, peso dos ratos, dosagens bioquímicas dos lipídeos plasmáticos e também dos lipídeos hepáticos. Verificou-se que o consumo das rações HLT e HLC foi menor que RN, porém, a evolução da massa corporal foi significativamente maior para o grupo alimentado com ração hiperlipídica. Diferente da HLC, HLT não apresentou aumento significativo de gordura visceral, peso do fígado e enzimas hepáticas, quando comparada à RN. Foi observado que HLT apresentou resposta significativa para induzir alterações dos lipídeos plasmáticos, causando aumento de colesterol total, LDL-c e triglicérides, levando a um quadro de dislipidemia, assim como a HLC, porém com menores efeitos deletérios ao fígado e valor superior da HDL-c, indicando relação com o perfil de ácidos graxos utilizados nas rações.

**Palavras-chave:** Dieta hiperlipídica; Dislipidemias; Ratos wistar.

### Abstract

Cardiovascular diseases are liable for many deaths and hospitalization in Brazil and world, therefore, experimental studies with animal models are key to inducing dyslipidemias by food in order to discover causes and treatments. Diets formulated with a combination of purified and semi-purified ingredients solve limitations due to the high price. The aim of this survey was to develop a less expensive semi-purified high-fat diet for increased dyslipidemia in rats. So, 21 male rats (*Rattus norvegicus*, wistar) were randomly divided into three groups and fed even four weeks with Control Diet (CD), Hyperlipidic Diet Test (HDT) and Commercial Hypercholesterolemic Diet (HDC). The HDT was produced from CD, lard and eggs. During the experiment, feed intake, rat weight, plasma lipids and hepatic lipids were analyzed. The consumption of HDT and HDC diets was lower than CD, however, body mass gain was significantly higher for the two

groups fed high-fat diets. Unlike HDC, HDT did not present a significant increase in visceral fat, liver weight or liver enzymes when compared to CD. It was observed that HLT showed a significant response to induce changes in plasma lipids, causing an increase in total cholesterol, LDL-c and triglycerides, leading to dyslipidemia, as did HLC, but with less deleterious effects on the liver and higher HDL-c values, indicating a relationship with the profile of fatty acids used in the rations.

**Keywords:** Diet, high-fat; Dyslipidemias; Rats, wistar.

### Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son responsables de gran parte de las muertes y causas de hospitalización en el mundo, por lo que es necesario ampliar los estudios experimentales con modelos animales induciendo dislipidemia mediante dieta para verificar causas y tratamientos. Las dietas formuladas con combinación de ingredientes purificados presentan limitaciones debido a su alto costo. Estuvo dirigido a la elaboración de una alimentación animal hiperlipídica semi purificada de bajo costo para la inducción de la dislipidemia en ratas. Se utilizaron 21 ratas wistar divididas en tres grupos, alimentadas durante cuatro semanas con alimentación animal control (RN), alimentación animal de prueba (HLT) y alimentación animal comercial (HLC). La HLT se preparó a partir de RN, manteca de cerdo y huevos. Durante el experimento se evaluaron el consumo de la alimentación animal, el peso de las ratas y las dosis bioquímicas de lípidos plasmáticos y hepáticos. Se comprobó que el consumo de la alimentación animal de HLT y HLC era inferior al de RN, sin embargo, la evolución de la masa corporal fue significativamente superior en el grupo alimentado con alimentación animal hiperlipídica. Diferente de la HLC, la HLT no mostró un aumento significativo de la grasa visceral, el peso del hígado y las enzimas hepáticas en comparación con la RN. Se observó que el HLT mostró una respuesta significativa para inducir alteraciones en los lípidos plasmáticos, provocando un aumento del colesterol total, LDL-c y triglicéridos, conduciendo a dislipidemia, así como el HLC, pero con efectos menos deletéreos para el hígado y mayor valor HDL-c, indicando una relación con el perfil de ácidos grasos usados en la alimentación animal o una diferencia en relación a los componentes de la alimentación animal.

**Palabras clave:** Dieta alta en grasa; Dislipidemias; Ratas wistar.

## 1. Introdução

O uso de modelos de experimentação animal cujo metabolismo e fisiologia são semelhantes ao do ser humano tem contribuído para o entendimento de mecanismos relacionados ao efeito de determinadas dietas no curso de doenças. Ratos da espécie *wistar* são muito utilizados como modelos, por serem espécies de fácil manipulação, inteligentes e demonstrarem similaridades nos traços comportamentais, de interesse em pesquisa científica (Gozzer et al., 2018). Estes tipos de experimentos são parte da atualização da medicina moderna, evitando sofrimento humano e alto número de mortes (Schor, 2008; Andersen, et al., 2020). Neste contexto, pesquisadores buscam modelos dietéticos experimentais que causem efeitos desejáveis, especialmente os que tratam da indução de doenças cardiovasculares, principais causas de óbitos no mundo (Celesk et al., 2013), a fim de verificar as possíveis formas de tratá-las.

No contexto das doenças cardiovasculares, a aterosclerose chama atenção como uma grave consequência das dislipidemias (Kumric et al., 2023) tendo como principais fatores de risco os níveis aumentados de ácidos graxos livres e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) circulantes, o que implica em maior toxicidade ao endotélio e músculo liso adjacente (Lima et al., 2021). Embora o colesterol alimentar exerça menor influência sobre a colesterolemia, o alto consumo resulta em hipercolesterolemia e pode induzir a aterosclerose, mas, este efeito é menor do que o da ingestão de ácidos graxos saturados e trans (Izar et al., 2021)

Para a reprodução de uma ração hiperlipídica de forma experimental utiliza-se colesterol ou ácido cólico purificado, porém, estes apresentam custo elevado, limitando estudos nessa linha de pesquisa. Tal problema estimula a necessidade da elaboração de dietas menos onerosas, com o uso de ingredientes integrados à alimentação da população, ricos em gordura saturada, colesterol, ácidos graxos *trans* e outros ácidos graxos que compõem as matérias primas de tais alimentos, favorecendo o desenvolvimento de novos estudos nesta área do conhecimento.

O consumo elevado de ácidos graxos saturados está associado à comprovados efeitos deletérios metabólicos e cardiovasculares, pois elevam as concentrações plasmáticas de colesterol total e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e possuem ação pró-inflamatória (Izar et al., 2021). Outros estudos populacionais apontam que os riscos de complicações

cardiovasculares que envolvem doenças coronárias e hipertensão arterial podem ser aumentados por conta do excesso de tecido adiposo com ênfase no abdômen, decorrente da obesidade, logo, da alimentação e do estilo de vida (Rosini et al., 2012).

Em vista disso, torna-se relevante esta pesquisa, justificando o desenvolvimento de rações hiperlipídicas a fim de serem testadas em investigações de nutrição experimental. A análise da viabilidade econômica e da composição de tais rações constitui o primeiro passo para a realização de estudos sobre o efeito de dietas hiperlipídicas em modelos animais. Tal abordagem colabora com o crescimento do vasto campo de estudos e pesquisas experimentais nesta linha. Com isso, objetivou-se elaborar e analisar uma ração hiperlipídica com o emprego de ingredientes de baixo custo para verificação da indução de dislipidemia em ratos.

## 2. Métodos

Foram utilizados 21 ratos machos (*Rattus norvegicus*, linhagem *wistar*), pesando  $244,5 \pm 4,17$  gramas ( $\pm 4$  semanas de idade), de padrão sanitário convencional, provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Durante o experimento, todos os animais tiveram acesso livre à água e à respectiva ração (consumo *ad libitum*), foram mantidos em condições ambientais controladas à temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , com exaustão padrão e períodos alternados de claro e escuro de 12h.

As condições gerais de manuseio e limpeza das gaiolas foram realizadas de acordo com as normas preconizadas pelos órgãos competentes para animais de biotério. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) do Centro Universitário Adventista de São Paulo, sob protocolo nº 04/2017.

### Delineamento Experimental

Ao chegarem, os animais passaram por um período de adaptação durante sete dias, neste período foi oferecida ração comercial Labina Purina®. Após este período, os animais (n=21) foram pesados e divididos aleatoriamente em três grupos (cada grupo com 7 animais). Em seguida, cada grupo recebeu sua respectiva ração durante quatro semanas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, sendo 1 grupo controle e 2 tratamentos, conforme descrito abaixo:

- Ração controle (RN): 7 ratos receberam a ração padrão por quatro semanas;
- Ração Hiperlipídica Teste (HLT): 7 ratos receberam a ração hiperlipídica elaborada por quatro semanas para indução da hipercolesterolemia;
- Ração Hiperlipídica Comercial (HLC): 7 ratos seguiram com a ração hiperlipídica industrializada por quatro semanas para indução da hipercolesterolemia.

Foram acondicionados de três a quatro animais por gaiolas de polipropileno forradas com maravalha autoclavada, tamanho padrão (dimensões de cerca de 34cm x 41cm x 18cm). Desta forma, cada grupo experimental ocupou duas gaiolas.

**2.1 As formulações foram elaboradas de acordo com recomendações nutricionais para ratos em fase de crescimento, segundo o NRC (NRC, 1995) e utilizando mistura de vitaminas e minerais para o crescimento adequado dos roedores, preconizada pelo American Institute of Nutrition for Growing Animals - AIN-93G, conforme Reeves et al. (1993) e foram oferecidas aos animais como pellets.**

Após 28 dias recebendo as dietas experimentais, todos os animais foram submetidos ao jejum de 12 horas para coleta dos materiais biológicos e sacrifício.

### Composição das rações

- ✓ Ração Padrão para Roedores (RN): Marca: Labina Purina®

Composição: Carbonato de cálcio, farelo de soja, farelo de trigo, alfafa desidratada, fosfato bicalcio, milho integral moído, óleo de soja degomado, cloreto de sódio (sal comum), premix vitamínico, mineral aminoácido, farinha de peixe, aditivo de antioxidante.

- ✓ Ração Hiperlipídica Teste (HLT) – Ração hiperlipídica de baixo custo a ser padronizada neste estudo.

Para cada kg de ração pronta serão utilizados: ração Labina Purina® (860g), banha suína Aurora® (140g), dez ovos de galinha médios (50g para cada 100g de ração).

- ✓ Ração Hiperlipídica Comercial (HLC)

Ração Hipercolesterolêmica RH19550, fornecida por Rhostr Indústria e Comércio Ltda, composta por caseína láctea, amido de milho, amido dextrinizado, sacarose, óleo de coco, óleo de soja, ácido cólico, colesterol, mix mineral RH9501, mix vitamínico RH9503, celulose, L-Cistina, bitartarato de Colina, tert-Butilhidroquinona (TBHQ) sigma-aldrich. (Proteína, carboidrato e gordura).

### Preparo da Ração Hiperlipídica Teste (HLT)

Foi preparado semanalmente 2Kg de Ração Hiperlipídica Teste (HLT) no laboratório de Técnica Dietética do Centro Universitário Adventista de São Paulo – UNASP-SP.

Para cada 2Kg de ração HLT foi utilizado 1720g de ração padrão para roedores (Labina Purina®), moída em liquidificador industrial (Skymesen) e peneirada. Foi então adicionado manualmente 20 ovos de galinha (50g cada unidade) e 280g de banha suína (Aurora®) à temperatura ambiente. A massa foi modelada em forma de *pellets* sobre papel filme e levadas à estufa convencional a  $50\pm 5^{\circ}\text{C}$  durante 24h. A ração foi conservada em refrigerador até o momento do experimento animal.

### 2.2 Dosagens bioquímicas

Os parâmetros bioquímicos foram dosados através de kits Labtest® e a leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro Varian CARY/ 50 Prob uv visible e Analizador Bioquímico Colorimétrico Semi Automático Quick Lab 2. Sendo avaliados os níveis séricos de Colesterol Total, HDL Colesterol, Triglicérides, Glicose, e enzimas hepáticas ALT/TGP, AST/TGO e Gama GT. As frações de Colesterol VLDL e LDL foram calculadas usando a equação Friedewald (Cordova et al., 2020).

### 2.3 Análise de determinação dos lipídeos hepáticos

Ao final do período experimental (após 28 dias), os animais foram anestesiados e eutanasiados para realização da coleta dos fígados, sendo o órgão de cada animal retirado. O lobo esquerdo foi dividido em amostras de 3 a 4 g para determinação dos lipídeos totais e acondicionados em microtubos fechados, identificados e armazenados em ultra-freezer até a realização das análises de lipídios totais, sendo utilizado método duplo-cego.

Para obtenção do extrato lipídico dos fígados utilizou-se a análise que determina as substâncias solúveis nos solventes apolares metanol e clorofórmio, com adaptações (Bligh et al., 1959). Amostras entre 3 a 6g de fígado foram adicionadas proporcionalmente de 1,5 a 2,5ml de metanol e 0,5 a 1ml de KCl 0,88 % (m/v), homogeneizadas e adicionado 1ml de clorofórmio. A seguir, o extrato foi filtrado em papel qualitativo e lavado cinco vezes com 1ml de clorofórmio para a extração total dos

lipídios. A quantidade de lipídeos extraídos foi determinada gravimetricamente e a análise realizada em triplicata (Bligh et al., 1959).

### Coefficiente de Eficiência Alimentar (CEA)

Para a determinação do CEA (%), os animais e o consumo da ração foram pesados diariamente durante o período de intervenção. O CEA (%) é a razão entre o ganho de peso e o consumo da ração de cada animal, finalizando com a média de cada grupo.  $CEA = (\text{ganho de peso do animal (g)} / \text{ingestão total de dieta (g)}) \times 100$

### Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média e a significância relativa ao valor basal foi avaliada pela análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey e Dunnett, considerando  $p \leq 0,05$  como diferença significativa. Os pacotes estatísticos utilizados foram *Statistical Package for Social Science* 20.0 (SPSS-IBM) e Graphpad Prism, versão 2005.

## 3. Resultados

### 3.1 Composição das Rações

Os resultados das análises de composição centesimal encontram-se descritos na Tabela 1.

**Tabela 1** - Composição centesimal das rações HLT e HLC.

	Ração HLT		Ração HLC	
	Composição (g/100g)	%VE	Composição (g/100g)	%VE
	Média $\pm$ DP		Média $\pm$ DP	
Umidade	4,71 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	-	10,42 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	-
Cinzas	6,83 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	-	2,64 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	-
Lipídios	22,14 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	42,89	21,52 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	42,53
Proteínas	23,85 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	20,54	19,19 $\pm$ 1,42 <sup>b</sup>	16,86
Carboidratos Totais	42,47 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	36,57*	46,23 $\pm$ 1,81 <sup>a</sup>	40,61*

Resultados expressos em Média  $\pm$  Desvio Padrão (DP) pela análise em triplicatas. Letras diferentes na mesma linha mostram diferença significativa pelo teste *t-Student* ( $p < 0,05$ ). \*Porcentagem calculada sem considerar a fibra alimentar. HLT: Hiperlipídica Teste. HLC: Hiperlipídica Comercial. %VE: Valor Energético. Fonte: Autores.

Não houve diferença significativa entre os teores de cinzas das rações HLT (6,83  $\pm$  0,06) e HLC (2,64  $\pm$  0,05). Além disso, ambas apresentaram valor energético e de macronutrientes adequados para a fase de crescimento dos ratos, exceto o teor lipídico. A energia necessária para manutenção de ratos adultos é estimada em 110 kcal/kg, e para crescimento 145 kcal/kg, em dietas com 12-27% de proteína; 5-25% de lipídios (Benevenga, 1995). Houve diferença estatisticamente significativa entre o teor de proteína das rações HLT (23,85  $\pm$  0,03) e HLP (19,19  $\pm$  1,42). Já o teor lipídico foi semelhante entre ambas as rações (22,14  $\pm$  0,11; 21,52  $\pm$  0,15) HLT e HLC, respectivamente.

Em relação aos pesos dos animais no início e ao final do experimento, não houve diferença estatística entre os grupos. O consumo da ração foi monitorado diariamente pela diferença entre a ração oferecida e o remanescente. Os ratos apresentaram um consumo médio diário próximo entre as rações HLT e HLC, e tiveram uma ingestão maior da ração normolipídica. Os

animais dos grupos experimentais (HLT e HLC) apresentaram menor consumo das respectivas rações, sendo esse resultado estatisticamente significativo frente ao controle (grupo RN) ( $p < 0,001$ ). A literatura apresenta resultados diferentes aos obtidos neste estudo (Duarte et al., 2006) (Kovaleski & Battiston, 2018). A porcentagem da variação final do peso corporal (evolução de massa corporal), ou seja, o ganho de peso durante quatro semanas de indução de dislipidemia foi maior para o grupo HLC ( $p < 0,001$ ) e menor para o grupo HLT ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo HLC (Tabela 2).

O CEA foi obtido pela razão entre o ganho de peso total e o consumo da ração durante o experimento (28 dias com dietas experimentais). De acordo com os resultados obtidos, o grupo HLT apresentou % de CEA superior aos demais grupos, mostrando alto coeficiente de eficiência alimentar desta ração, embora não se possa afirmar diferença estatística, em função deste parâmetro ter sido avaliado por grupo e não por animal.

**Tabela 2** - Média e desvio padrão dos pesos inicial e final, consumo de ração, evolução de massa corporal (EMC), coeficiente de eficiência alimentar (CEA), gordura visceral total e peso do fígado dos animais, por grupo, após 28 dias de experimento.

GRUPOS	RN (n=7)	HLT (n=7)	HLC (n=7)
Média do Peso Inicial dos Ratos (g)	241,43±16,51	245,71±16,44	246,43±25,61
Média do Peso Final dos Ratos (g)	403,57±23,4	420,71±41,9	432,86±37,6
Consumo de Ração (g/dia/animal)	24,75 ± 3,47	18,78 ± 2,23 ***	19,83 ± 2,28 ***
Evolução de Massa Corporal (EMC) (%)	23,06 ± 4,02	26,72 ± 4,59 *	33,59 ± 5,35 ***
Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) (%)	24	34	25
Gordura Visceral Total (g)	15,7 ± 5,13	22,77 ± 8,58	29,36 ± 8,58 **
Peso Fígado Total (g)	19,9 ± 2,11	21,92 ± 3,66 *	26,27 ± 2,29 **

Análise estatística ANOVA - Tukey onde \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ . RN: Ração Normolipídica. HLT: Hiperlipídica Teste. HLC: Hiperlipídica Comercial. CEA = (ganho de peso do animal (g) / ingestão total de dieta (g)) x 100. Fonte: Autores.

Ao se tratar da gordura visceral e peso do fígado, o grupo HLC apresentou valores superiores, com diferença significativa ( $p > 0,01$ ) quando comparado ao grupo controle (RN). Já o grupo HLT não apresentou diferença significativa em relação aos valores de gordura visceral total e de peso do fígado, quando em comparação com o grupo controle, porém o peso do fígado foi estatisticamente menor que o do grupo HLC.

Observou-se que a concentração sérica de colesterol total (mg/dL) do grupo HLT foi maior estatisticamente ( $p < 0,01$ ) frente ao grupo controle RN, houve diferença estatisticamente significativa quando comparado aos valores de colesterol total do grupo HLC e o grupo HLT, evidenciando que a ração elaborada pode ser utilizada para indução de dislipidemia em ratos *wistar*.

No teste de Dunnet houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) de aumento de triglicerídeos para o grupo HLT quando comparado ao controle. Já no exame de glicemia, não houve diferença significativa entre os níveis de glicemia dos ratos de nenhum dos grupos (Tabela 3).

**Tabela 3** - Média e Desvio Padrão das análises Bioquímicas após 28 dias de experimento com as respectivas rações: RN (ração controle), HLT (ração hiperlipídica teste) e HLC (ração hiperlipídica comercial).

Parâmetros	RN (n=7)	HLT (n=7)	HLC (n=7)
Colesterol Total (mg/dL) <sup>a</sup>	86,43 ± 15,41	103,40 ± 20,32	126,10 ± 24,00**
HDL Colesterol (mg/dL) <sup>a</sup>	31,29 ± 2,63	35,57 ± 4,24	27,86 ± 2,61***
VLDL Colesterol (mg/dL) <sup>b</sup>	14,11 ± 2,64	18,23 ± 4,45*	14,62 ± 1,32
LDL Colesterol (mg/dL) <sup>b</sup>	41,03 ± 17,01	49,63 ± 18,60*	83,66 ± 24,26**
Triglicerídeos (mg/dL) <sup>a</sup>	70,57 ± 13,19	91,14 ± 22,25*	73,14 ± 6,62
Glicemia (mg/dL) <sup>a</sup>	127,90 ± 19,37	132,90 ± 12,16	122,00 ± 13,00
ALT/ TGP (U/L) <sup>a</sup>	80,29 ± 15,40	72,86 ± 13,27	122,80 ± 46,32*
AST / TGO (U/L) <sup>a</sup>	117,40 ± 21,23	101,30 ± 11,40	138,20 ± 22,23**
Gama-GT (U/L) <sup>a</sup>	11,29 ± 2,36	8,57 ± 1,81	8,14 ± 2,48*

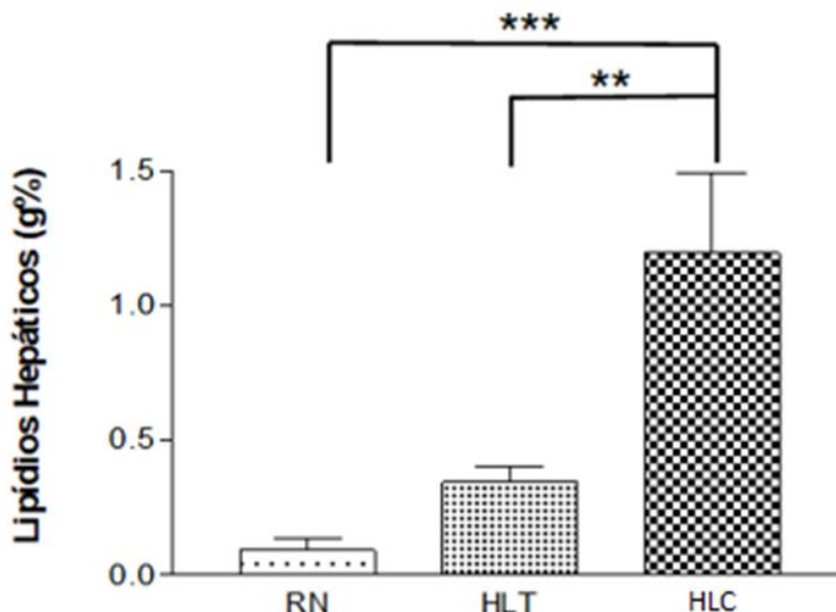
<sup>a</sup>Analisador Bioquímico Colorimétrico Semi Automático Quick Lab 2. <sup>b</sup>Cálculo Equação Friedewald (LABTEST, 2016). Análise Estatística ANOVA – Tukey e Dunnett (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ ).

O grupo que fez ingestão da ração comercial (HLC) apresentou um aumento significativo nos níveis de ALT/TGP ( $p > 0,05$ ) e AST/TGO ( $p > 0,01$ ) quando comparados ao grupo HLT, porém este não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, os grupos que se alimentaram com ração hiperlipídica apresentaram menores dosagens de gama glutamil transpeptidase/Gama-GT, quando comparados ao controle, sendo essa diferença significativamente menor para o HLC ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3).

Conforme verificado no Gráfico 1, houve diferença estatística significativa para o teor de lipídeos hepáticos entre os grupos RN e HLC e entre os grupos HLT e HLC, evidenciando maior depósito de gordura hepática nos animais alimentados com a ração hiperlipídica comercial em relação aos animais alimentados com as rações normolipídica e hiperlipídica teste.



**Gráfico 1** - Teor de lipídeos hepáticos em ratos *wistar* após 28 dias de tratamento com ração padrão para roedores (RN), ração hiperlipídica de baixo custo (HLT) e ração hiperlipídica comercial (HLC).



As colunas e barras verticais são médias  $\pm$  desvio padrão das médias, de 7 ratos. (ANOVA – Tukey). \*\*\* $p < 0,001$  \*\* $p < 0,01$ . Fonte: Autores.

#### 4. Discussão

A ração HLT apresentou valor calórico, proteico e glicídico adequados para a fase de crescimento dos ratos, tendo somente o valor de lipídeos superior em relação ao VET (42%). A quantidade de energia necessária para a manutenção de ratos na fase adulta é de 110 kcal/kg e para o crescimento é de 145 kcal/kg, em dietas com 12-27% de proteína; 5-25% de lipídios (Benevenga, 1995). Ovos de galinha podem ser utilizados para a indução do aumento dos níveis plasmáticos de colesterol em roedores (Mendoza et al., 2005). O uso de ovos de galinha na formulação da ração HLT, colaborou tanto para o aporte lipídico, quanto para o aporte proteico, que teve diferença significativamente maior para a HLT em comparação ao HLC. A clara possui proteínas como ovalbumina, conalbumina, ovomucóide, ovomucina e lisozima (Ramos, 2008). A gema é composta por 16% de proteínas (lipoproteínas) e 34% de lipídios, sendo 66% de triacilgliceróis, 28% de fosfolipídios e 5% de colesterol (Closa et al., 1999). Ambas as rações estavam dentro dos valores recomendados de proteína (12 a 27%).

A banha suína, utilizada na ração HLT, também colaborou para o aumento do aporte lipídico. A banha suína é rica em ácidos graxos saturados, que possuem a capacidade de interferir na expressão de receptores hepáticos para absorção e metabolismo de LDL-c, pois apresenta um maior teor de ácido graxo palmítico (Gutierrez & Fonseca, 1974), considerado um ácido graxo hipercolesterolêmico que estimula uma hipersecreção de triglicérides e colesterol através da VLDL hepática, contribuindo para gênese do processo aterosclerótico (Oliveira, 2013; Sugano & Imaizumi, 1995).

A banha suína apresenta em 100g, 95 mg de colesterol. O consumo excessivo desse tipo de gordura está relacionado com o aumento dos níveis plasmáticos de colesterol e com o risco de doenças cardiovasculares (Bortoli et al., 2011). Os ácidos graxos saturados tendem a aumentar as concentrações plasmáticas de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) e colesterol total. A hipercolesterolemia isolada é caracterizada com o aumento do colesterol total e/ou do LDL colesterol; a hipertrigliceridemia isolada é caracterizada pelo aumento dos triglicérides; a hiperlipidemia mista caracterizada pelo aumento do colesterol e triglicérides e diminuição isolada do HDL colesterol ou associada a aumento do LDL colesterol ou triglicérides (Izar et al., 2021).



O consumo (em g/dia) da ração HLT foi menor, quando comparado com os animais que consumiram as rações RN e HLC. Sugere-se que o menor consumo está associado à alta densidade energética das rações hiperlipídicas em relação à ração padrão para roedores (White et al., 2013). Isso se deve ao maior percentual de gordura da HLT em comparação a RN, devido à utilização de ingredientes com alto teor lipídico. A dieta hiperlipídica tem a função de causar maior saciedade. A textura mais dura das rações pode acarretar menor consumo (Moura, 2014). Dois estudos apresentaram resultados distintos, no que se refere ao consumo da ração, o primeiro não encontrou diferença significativa no consumo da ração controle e a hiperlipídica, no segundo estudo com ratos *wistar*, os grupos experimentais consumiram 12% a mais da dieta hiperlipídica, quando comparada à controle, onde para a formulação da ração, além do uso da ração comercial e da banha suína, foram acrescentados chocolate ao leite, amendoim e bolacha de maisena (Kovaleski & Battiston, 2018; Duarte et al., 2006). Diferenças de consumo podem se dar ao tempo de experimento e ao uso de ingredientes contendo algum tipo de açúcar para aumentar a palatabilidade das rações, o que não foi o caso das rações utilizadas no presente estudo.

O percentual de evolução de massa corporal foi estatisticamente significante para ambos os grupos que receberam ração hiperlipídica, sendo maior para HLC ( $p > 0,001$ ), quando comparado com HLT ( $p > 0,05$ ). No entanto, ambas as rações promoveram aumento significativo de peso, o que também foi observado por outros autores que ofereceram diferentes rações hiperlipídicas (Muniz et al., 2019; White et al., 2013; Martins, 2014; Perez, 2014; Bernardes, 2004).

Como visto, a menor ingestão de ração pelo grupo HLT não influenciou no ganho de peso, além disso, o CEA foi maior para HLT (34) comparado ao grupo RN (24) e HLC (25), mostrando a eficiência da ração para a manutenção corporal dos animais. Sendo assim, o aumento de peso e as alterações biológicas podem estar mais ligadas ao perfil de ácidos graxos e demais composições das rações hiperlipídicas, que ao maior consumo da ração.

Estudos pioneiros que desenvolveram dietas com gema de ovo como fonte de colesterol alimentar a 0,15% adicionada à ração padrão de coelhos, mostraram um aumento nas concentrações plasmáticas de colesterol total e frações (Jaldin et al., 2006). Em pesquisas anteriores utilizando a mesma dieta com gema de ovo, ofertada a ratos, verificou-se significativo aumento nos níveis plasmáticos de colesterol total e das frações LDL- colesterol e VLDL- colesterol (Baracho et al., 2014). Resultados semelhantes foram encontrados com uma ração hiperlipídica à base de ração Labina Purina®, banha suína e gema, em ratos da linhagem *wistar* e observaram aumento de colesterol estatisticamente significativo para ração hiperlipídica  $106,2 \pm 7,6$ mg/dL frente ao grupo controle (Baracho et al., 2014).

A ração hiperlipídica elaborada para este estudo pode ser considerada um bom modelo experimental, pois aparentemente não causa alterações hepáticas significativas como a ração comercial hiperlipídica, já que o peso do fígado dos ratos, não apresentou diferença significativa frente ao controle e não houve aumento significativo de enzimas hepáticas AST/TGP e ALT/TGO. Essas enzimas são dosadas no plasma para verificar a função hepática, se o fígado estiver comprometido, elas estarão acima dos valores de referência, já acusando esteatose hepática (Franke et al., 2019; González & Silva, 2008).

Apesar da ração teste ter apresentado um aumento de glicose plasmática nos ratos, assim como a RN comparadas com a HLC, esse aumento não foi significativo, como em outros estudos com uso de ração hiperlipídica para roedores (Pereira et al., 2018; Mito et al., 2006; Moura et al., 2012; Estadella et al., 2004). Contudo, a ração HLT levou a um quadro dislipidêmico, e apresentou eficácia, como possível modelo experimental para outros estudos, além do que, quando comparada à outras rações, foi a que causou menor efeito deletério hepático.

Uma ração composta de tripalmitato (ácido palmítico) e triestearato (ácido esteárico) foi utilizada no modelo de camundongos *Knockout*, e encontrou níveis de colesterol total mais elevados quando comparados aos grupos controle (Oliveira, 2013). A fonte de ácidos graxos utilizada nas dietas para indução de dislipidemia, frequentemente é composta de gorduras saturadas (palmítico e esteárico), contudo as rações são produzidas a nível industrial, sendo possível empregar nessa pesquisa

com ingredientes de perfil lipídico semelhantes, porém de baixo custo, possibilitando replicação facilitada e adaptações para outros estudos.

## 5. Considerações Finais

Foi possível padronizar, analisar a composição centesimal e validar a eficácia da ração desenvolvida a fim de aumentar o perfil lipídico em ratos *wistar*. A ração Hiperlipídica Teste possui semelhanças em relação a composição centesimal quando comparada a ração Hiperlipídica Comercial. Sendo assim, a partir do experimento desenvolvido no período de 4 semanas, observou-se que a ração HLT apresentou resposta significativa para induzir a alterações bioquímicas em ratos da linhagem *wistar*, levando a dislipidemia com uma ração experimental de baixo custo e possibilitando replicação para futuras pesquisas com esta mesma finalidade.

## Referências

- Baracho, N. C. V., Nunes, L. A. S., Silva, K. T. P., Marques, T. F., Santos, A. L. R., & Marcelino, A. R. (2014). Desenvolvimento de um modelo experimental de dislipidemia de baixo custo. *Revista Ciências em Saúde*, 4(3). <https://doi.org/10.21876/rcsfmit.v4i3.224>
- Benevenga, N. (1995). Nutrient requirements of laboratory animals, National Research Council. *National Academy Press*, 6: 450, Washington D.C. 2022 set 12. Nutrient Requirements of Laboratory Animals - NCBI Bookshelf (nih.gov)
- Bernardes, D., Manzoni, M. S. J., Souza, C. P. de, Tenório, N., & Dâmaso, A. R. (2004). Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Revista Brasileira De Educação Física E Esporte*, 18(2), 191-200. <https://doi.org/10.1590/S1807-55092004000200007>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Bortoli, C., Bonatto, S., Bruscatto, N. M., & Siveiro, J. (2011). Ingestão dietética de gordura saturada e carboidratos em adultos e idosos com dislipidemias oriundos do projeto Veranópolis. *Rev. Bras Cardiol*, 24(1): 33-41.
- Cabeço, L. C., Mayumi, A., Calsa, M. S., Sartori, D. R., Vicentini-Paulino, M. L., & Pinheiro, D. F. (2010). Dieta hiperlipídica com farinha de soja como fonte proteica: utilização na seleção de ratos propensos e resistentes à obesidade. *Revista de Nutrição*, 23(3). <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000300009>
- Campos, D. S., Matos, R. L., Abreu, V. A., & Ninahuaman, M. F. (2017). Elaboração de dieta hiperlipídica de baixo custo para indução de hipercolesterolemia em ratos. *Acta Scien Biol Resea*. 2 (2): 55 - 67. <https://revistas.unasp.edu.br/acb/article/view/980/1086>
- Celes, I. C., Fergutz, J. K., Pereira, E. M., Zétola, M., Bazzo, G. C., & Pezzini, B. R. (2013). Avaliação da indução de hiperlipidemia em ratos por dexametasona e óleo de coco. *Infarma Cien Farm*. 25 (3): 126-31. <http://dx.doi.org/10.14450/2318-9312.v25.e3.a2013.pp126-131>
- Closa, S. J., Marchesich, C., Cabrera, M., & Morales, J. C. (1999). Composición de huevos de gallina y codorniz. *Arch Latinoame de nutri*. 49(2): 181 - 185. Acesso em: 2022 set 16. Composición de huevos de gallina y codorniz (alanrevista.org).
- Cordova, C. M., Portal, A. S., & Cordova, M. M. (2020). Fórmulas de Martin, Friedewald e Cordova comparadas com a dosagem direta do LDL-C no sul do Brasil. *Jornal Brasileiro De Patologia E Medicina Laboratorial*, 56, 1-6. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20200003>
- Duarte A. C., Fonseca, D. F., Manzoni, M. S., Soave, C. F., Sene-Fiorese, M., Dâmaso, A. R., & Cheik N. C. (2006). Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. *Rev. Nutr*. 19(3): 341-348.
- Estadella, D., Oyama, L. M., Dâmaso, A. R., Ribeiro, E. B., & Oller Do Nascimento, C. M. (2004). Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 20(2), 218-224. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2003.10.008>
- Franke, T. A., Boeira, V. L., Silva, C. M., & Peder, L. D. (2019). Alterações enzimáticas relacionadas a problemas hepáticos em uma amostra de um laboratório privado de Mercedes, Paraná <b></b>. *Revista EVS- Revista de Ciências Ambientais e Saúde*. 46. <https://doi.org/10.18224/evs.v46i1.6034>
- González, F. H., & Silva, S. C. (2008). Patologia clínica veterinária: texto introdutório. [Texto de apoio/monografia] Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 347 p. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpegblefindmkaj/https://www.ufrgs.br/lacvet/livros/Analises\\_Clinicas\\_Vet.pdf](chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpegblefindmkaj/https://www.ufrgs.br/lacvet/livros/Analises_Clinicas_Vet.pdf)
- Gozzer P., Andrade, E., Belotto, P. C., Silva, B. F., Mascarin, A. A., & Silva, C. A. (2018). Comportamento de ratos Wistar: importância do enriquecimento ambiental. *Saúde em Rev*. 18 (48): 67-77. <https://doi.org/10.15600/2238-1244/sr.v17n48p69-77>
- Gutierrez, L. E., & Fonseca, H. (1974). Composição em Ácidos Graxos de Óleos Vegetais e Gorduras Animais. *An. Esc. Super. Agric. Luiz de Queiroz*, 31. <https://doi.org/10.1590/S0071-12761974000100038>
- Izar, M. C. O., Lottenberg, A. M., Giraldez, V. Z. R., Santos Filho, R. D. D., Machado, R. M., Bertolami, A., Assad, M. H. V., Saraiva, J. F. K., Faludi, A. A., Moreira, A. S. B., Geloneze, B., Magnoni, C. D., Scherr, C., Amaral, C. K., Araújo, D. B., Cintra, D. E. C., Nakandakare, E. R., Fonseca, F. A. H., Mota, I. C. P., Santos, J. E. D., & Machado, V. A. (2021). Position Statement on Fat Consumption and Cardiovascular Health - 2021. Posicionamento sobre o Consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular – 2021. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 116(1), 160-212. <https://doi.org/10.36660/abc.20201340>

- Jaldin, R. G., Filho, H. A., Sequeira, J. L., & Yoshida, W. B. (2006). O Processo Aterosclerótico em Artérias de Coelho Submetidos a Dieta Suplementada com Gema de Ovo: Modelo Experimental de Baixo Custo. *J Vasc. Bras.* 5(4). <https://doi.org/10.1590/S1677-54492006000400003>
- Kovaleski, J., & Battiston, F. G. (2018). Desenvolvimento de ração hipercalórica/hiperlipídica como alternativa para induzir a obesidade em ratos wistar. *Seminário De Iniciação Científica E Seminário Integrado De Ensino, Pesquisa E Extensão*. <https://periodicos.unoesc.edu.br/siepe/article/view/18368>
- Kumric, Marko, Hrvoje Urlic, Josko Bozic, Marino Vilovic, Tina Ticinovic Kurir, Duska Glavas, Dino Miric, Jaksa Zanchi, Ante Bradaric-Slujo, Mislav Lozo, & Josip A. Borovac. (2023). "Emerging Therapies for the Treatment of Atherosclerotic Cardiovascular Disease: From Bench to Bedside" *International Journal of Molecular Sciences* 24, no. 9: 8062. <https://doi.org/10.3390/ijms24098062>
- Lima, T. R., Silva, D. A. S., Giehl, M. W. C., D'Orsi, E., & González-Chica, D. A. (2021). Agrupamentos de Fatores de Risco Cardiometabólicos e sua Associação com Aterosclerose e Inflamação Crônica em Adultos e Idosos em Florianópolis, Sul do Brasil. *Arq Bras Cardiol.* 117(1):39-48. <https://doi.org/10.36660/abc.20200230>
- Martins F. Caracterização metabólica e estudo morfológico do miocárdio de ratos com obesidade induzida por dieta. (2015). Campo Grande: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul; 67p. Modelo de Projeto FUNDECT (ufms.br)
- Mendoza, D., Ruiz, W., Souza, L. A. D., Sousa, G. D. D., & Sousa, M. D. D. (2017). Aterosclerose experimental efeito de ingestão da gema de ovo de galinha no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas em coelhos. *VITTALLE - Revista De Ciências Da Saúde*, 17(1), 59-66. <https://doi.org/10.14295/vittalle.v17i1.7613>
- Miotto, A. M. (2006). Alterações cardiovasculares e metabólicas induzidas pela dieta hiperlipídica em ratos [dissertação]. Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. 138p. <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/11152>
- Moura, A. M. (2014). Nutrição de roedores de laboratório: paradigmas e desafios. *REBSCAL.* 2(4): 288-296.
- Moura, L. P., Dalia, R. A., Araújo, M. B., Sponton, A. C., Pauli, J. R., & Moura, R. F. (2012). Alterações bioquímicas e hepáticas em ratos submetidos a uma dieta hiperlipídica/hiperenergética. *Rev. Nutr.* 25(6): 685-693. <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/11152>.
- Muniz, L. B., Alves-Santos, A. M., Camargo, F., Martins, D. B., Celes, M. R. N., & Naves, M. M. V. (2019). High-Lard and High-Cholesterol Diet, but not High-Lard Diet, Leads to Metabolic Disorders in a Modified Dyslipidemia Model. *Arq. Bras. Cardiol.* 113(5). <https://doi.org/10.5935/abc.20190149>
- National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. (1995). *Nutrient Requirements of Laboratory Animals: Fourth Revised Edition, 1995*. National Academies Press (US).
- Oliveira, C. J. (2013). Avaliação Comparativa do Efeito de Ácidos Graxos Oléico, palmítico e Esteárico sobre Biomarcadores do Processo Aterosclerótico [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2013. 150 p. Avaliação comparativa do efeito dos ácidos graxos oléico, palmítico e esteárico sobre... (usp.br)
- Pereira, J. L., Souza, P. C. S., Shinzato, V. I., Sasso, S., Santo, B. L. S. E., Santa, L. F., Restel, T. I., & Freitas, K. C. (2018). Ganho de peso e alterações metabólicas em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica. *Ciência e Saúde*, 11(1): 51-57. <https://dx.doi.org/10.15448/1983-652x.2018.1.27672>
- Perez, G. S. (2014). Consumo de dieta hiperlipídica durante período perinatal e pós desmame: efeitos sobre parâmetros hepáticos e do metabolismo lipídico em ratos jovens [tese]. Salvador: Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia. 49 p. <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/18927>.
- Rosini, T. C., Silva, A. S., & Moraes, C. (2012). Obesidade Induzida por Consumo de Dieta: Modelo em Roedores para o Estudo dos Distúrbios Relacionados com a obesidade. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 58(3): 383- 387. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302012000300021>
- Schor, N., & Boim, M. (2008). A Importância do Uso de Animais Experimentais para a Medicina Humana. *Arq. Bras. Ciênc. Saúde.*; 33 (1). Vista do Importância do uso de animais experimentais para a medicina humana (portalnepas.org.br)
- Sugano M., & Imaizumi, K. (1995). Effect of Different Saturated Fatty Acids as Interesterified Triacylglycerols on Lipid Metabolism in Rats and Hamsters. *J. Nutr.* 06: 195-200. [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(95\)00033-V](https://doi.org/10.1016/0955-2863(95)00033-V)
- Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.1. 2020. <http://www.fcf.usp.br/tbca>.
- White, P. A., Cercato, L. M., Araújo, J. M., Souza, L. A., Soares, A. F., Barbosa, A. P. R., Neto, J. M., Marçal, A. C., Machado, U. F., Camargo, E. A., Santos M. R., & Brito, L. C. (2013). Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 57(5): 339-345. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302013000500002>