

BIBLIOTECA - EMESCAM

ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE
VITÓRIA - EMESCAM

ANNA CAROLINA DAMM DE ASSIS
EMMANUEL NASSER VARGAS ARAUJO DE ASSIS
GIOVANNA DAMM RAPHAEL

ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO INTRA E EXTRA-
ABDOMINAL DE ANIMAIS SUBMETIDOS À OBESIDADE PELO GLUTAMATO
MONOSSÓDICO (MSG)

VITÓRIA
2012

**ANNA CAROLINA DAMM DE ASSIS
EMMANUEL NASSER VARGAS ARAUJO DE ASSIS
GIOVANNA DAMM RAPHAEL**

**ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO INTRA
E EXTRA-ABDOMINAL DE ANIMAIS SUBMETIDOS À OBESIDADE
PELO GLUTAMATO MONOSSÓDICO (MSG)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM, como requisito parcial para obtenção do grau de médico.

Orientador: Hadnan Tose

Coorientador: Hélder Mauad

VITÓRIA

2012

**ANNA CAROLINA DAMM DE ASSIS
EMMANUEL NASSER VARGAS ARAUJO DE ASSIS
GIOVANNA DAMM RAPHAEL**

**ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO INTRA E EXTRA-
ABDOMINAL DE ANIMAIS SUBMETIDOS À OBESIDADE PELO GLUTAMATO
MONOSSÓDICO (MSG)**

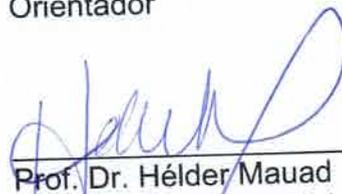
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM, como requisito parcial para obtenção do grau de médico.

Aprovado em 13 de Julho de 2012.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Hadnan Tose
Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória – EMESCAM
Orientador



Prof. Dr. Hélder Mauad
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES
Coorientador



Prof. Dra. Áquila Rebello Nascimento Tose
Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória – EMESCAM

Dedicamos ao Prof. Dr. Hadnan Tose, Prof. Dr. Hélder Mauad, Dra. Áquila Rebello Nascimento Tose e Dr. Fábio Pimenta, por toda orientação, colaboração, carinho e entusiasmo para que concretizássemos o nosso trabalho de conclusão de curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me deu forças e iluminou meu caminho. Aos meus pais que me ensinaram o valor de um sonho e me deram apoio e estrutura para buscá-lo e ao meu amigo Emmanuel e minha prima-irmão Giovanna que me acompanharam nessa jornada.

Anna Carolina Damm de Assis

A Deus, pela dádiva suprema da vida. À minha mãe, pelo amor incondicional. À minha avó, por não medir esforços para que eu chegasse até aqui. Ao meu pai, que mesmo ausente, zela por mim. Aos amigos pela compreensão e palavras de apoio nessa longa jornada.

Emmanuel Nasser Vargas Araujo de Assis

Agradeço a todos que contribuíram para a conclusão de mais uma etapa na minha vida. A Deus, meu refúgio e fortaleza. Aos meus pais, pela dedicação, incentivo e amor eterno. Aos meus irmãos pela ajuda e carinho de sempre. Ao José Vicente por compreender a ausência em momentos tão decisivos. Aos familiares e amigos, em especial para Anna Carolina e Emmanuel, pela força e torcida.

Giovanna Damm Raphael

"Ninguém é tão grande que não possa aprender e ninguém é tão pequeno que não possa ensinar."

(Augusto Cury)

RESUMO

Introdução: A obesidade é considerada atualmente uma doença inflamatória crônica de baixo grau que incide em grande parcela da população mundial sendo hoje considerada uma pandemia. Apesar de estudos, alguns aspectos sobre a doença ainda faltam ser elucidados, como, por exemplo, a sua instalação. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo estudar a gênese e o desenvolvimento da obesidade em animais submetidos à lesão hipotalâmica através do MSG.

Métodos: Para este estudo foram utilizados filhotes de ratas *Wistar (WKY)* gestantes provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo. A obesidade foi induzida nos animais por administração subcutânea de uma solução de MSG na concentração de 4 mg/g (SC) durante a fase neonatal dos ratos (2° a 11° dia de vida). Outro grupo foi submetido a injeções diárias de uma solução de salina hipertônica (1,25 %). Aos 21 dias de vida, os animais foram desmamados, separados em grupos e foi introduzida ração *ad libitum*. Após a decaptação, os seguintes TABs foram isolados e coletados: Parietal ou Extra-peritoneal, Perigonadal (epididimal e parametrial), Omental, Peri-renal e Retro-peritoneal.

Resultados: Fêmeas do grupo controle apresentaram PC menor que os machos a partir da 7ª semana, enquanto no MSG apenas na 10ª e 12ª semanas. Comprimento naso-anal as fêmeas apresentaram valores significativamente menores em relação aos machos a partir da 7ª semana. TAB visceral maiores nas fêmeas grupo controle na 7ª, 9ª, 10ª e 12ª semanas em relação aos machos obteve * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$. No grupo MSG, as fêmeas apresentaram valores maiores a partir da 8ª semana * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$. **Conclusão:** Os ratos fêmeas apresentam significativamente mais Tecido Adiposo Branco (TAB) visceral que os ratos machos no grupo controle e MSG. O mesmo não foi observado para o TAB extra-visceral.

Palavras-Chaves: Obesidade. MSG. Tecido Adiposo Branco. Mobilidade de Gordura. Inflamação.

LISTA DE ABREVIATURAS

- All - Angiotensina II
ACTH - Corticotrofina
AgRP - Proteína Relacionada à Agolti
AMP-c - Adenosina Monofosfato Cíclico
ANOVA - Análise de Variância
CART - Transcrito Regulado pela Cocaína e Anfetamina
CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CNA - Comprimento Naso-Anal
DHEA - Dehidroepiandrosterona
ECA - Enzima Conversora de Angiotensinogênio
EP - Epididimal
FSH - Hormônio Folículo Estimulante
GH - Hormônio de Crescimento
GHRH - Hormônio Liberador do Hormônio de Crescimento
GLUT4 - Proteína 4 Translocadora de Glicose
HSL - Lipase Hormônio Sensível
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa
IGF-I - Fator de Crescimento I Semelhante à Insulina
IL-2 - Interleucina 2
IL-6 - Interleucina 6
IMC - Índice de Massa Corporal
Kg/m² - Quilogramas Dividido pelo Quadrado da sua Altura em Metros
LH - Hormônio Luteinizante
LPL - Lipase Lipoprotéica
MCR 3 - Receptor de Melanocortina 3
MCR 4 - Receptor de Melanocortina 4
MSG - Glutamato Monossódico
MSH - Melanocortinas
NPY - Neuropeptídeo Y
OM - Omental
OMS - Organização Mundial de Saúde

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Peso Corporal de Machos de Ratos Machos e Fêmeas Controle (painel superior) e Submetidos ao Tratamento MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	30
Figura 2 - Peso Corporal de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	31
Figura 3 - Comprimento naso-anal de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	32
Figura 4 - Comprimento naso-anal de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	33
Figura 5 - Índice de Lee de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	34
Figura 6 - Índice de Lee de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	35
Figura 7 - TAB Intra-abdominal de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	36
Figura 8 - TAB Intra-abdominal de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	37
Figura 9 - TAB Extra-abdominal de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	38
Figura 10 - TAB Extra-abdominal de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	39

Figura 11 - TAB Visceral de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	40
Figura 12 - TAB Visceral de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	41
Figura 13 - TAB Extra-visceral de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	42
Figura 14 - TAB Extra-visceral de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida.....	43

PAI-1 - Inibidor 1 da Ativação de Plasminogênio
PBS - Formol de Tampão Fosfato
PC - Peso Corporal
PGI₂ - Prostaciclina 2
PM - Parametrial
POMC - Pró-ópio-melanocortina
PR - Peri-renal
PT - Parietal
RBP-4 - Proteína Ligadora de Retinol 4
rhGH - Hormônio de Crescimento Recombinante Humano
RNM - Ressonância Nuclear Magnética
RP - Retro-peritoneal
ROC - Receiver Operating Characteristic
SC - Subcutâneo
SDHEA - Sulfato de Dehidroepiandrosterona
SHBG - Globulina Ligante de Hormônios Sexuais
T - Testosterona
TAB - Tecido Adiposo Branco
TABV - Tecido Adiposo Branco Visceral
TAG - Triacil-glicerol
TNF α - Fator de Necrose Tumoral alfa
UFES - Universidade Federal do Espírito Santo
WKY - Filhotes de Ratas Wistar

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da obesidade de acordo com a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia.....	14
Tabela 2 - Grupos Experimentais.....	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS	21
2.1	GERAL	21
2.2	ESPECÍFICOS	21
3	JUSTIFICATIVA	22
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1	ANIMAIS.....	23
4.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	23
4.3	INDUÇÃO DO MODELO DE OBESIDADE.....	23
4.4	REMOÇÃO CIRÚRGICA DOS TECIDOS ADIPOSOS.....	24
4.5	DETERMINAÇÃO DO PESO CORPORAL E ÍNDICE DE LEE.....	25
4.6	CLASSIFICAÇÃO DOS TABs.....	26
4.6.1	Visceral.....	28
4.6.2	Extra-Visceral.....	26
4.6.3	Intra-Abdominal.....	26
4.6.4	Extra-Abdominal.....	26
4.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	26
5	RESULTADOS.....	27
6	DISCUSSÃO.....	44
6.1	PESO CORPORAL E COMPRIMENTO NASO-ANAL.....	44
6.2	TECIDO ADIPOSOS BRANCO.....	46
6.3	ÍNDICE DE LEE.....	50
7	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Obesidade e sobrepeso, definidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS), são o acúmulo anormal ou excessivo de gordura que podem promover danos à saúde¹. O método clínico preditor de obesidade adotado internacionalmente por esse Órgão é chamado de Índice de Massa Corporal (IMC), o qual é um método simples para se obter uma classificação genérica da população acima do peso corporal, sendo considerado um instrumento de avaliação populacional, por não ser específico para avaliação do índice de adiposidade. O IMC é obtido através do cálculo do peso do indivíduo em quilogramas dividido pelo quadrado da sua altura em metros (kg/m^2).

TABELA1 - Classificação da obesidade de acordo com a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia²

IMC / Pontos de corte	Classificação	Risco de Comorbilidade
<18,5	Baixo peso	Baixo
18,5-24,9	Peso normal	Baixo
25-29,9	Pré-obeso	Aumentado
30-34,9	Obesidade de Classe 1	Moderado
35-39,9	Obesidade de Classe 2	Grave
≥ 40	Obesidade de Classe 3	Muito Grave

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em pesquisa realizada entre os anos de 2008 e 2009 no Brasil, encontram-se em estado de obesidade 12,5% dos homens e 16,9% das mulheres com mais de 20 anos³.

A obesidade é considerada atualmente uma doença inflamatória crônica de baixo grau que incide em grande parcela da população mundial sendo hoje considerada uma pandemia que acomete mais de 300 milhões de adultos pelo mundo⁴. É uma doença que provoca e/ou acelera o desenvolvimento de muitas outras doenças que no cômputo geral abrevia precocemente a vida do indivíduo. No total desses pacientes adultos, em torno de 80% tem pelo menos uma comorbidade associada à obesidade, enquanto 40% têm duas ou mais comorbidades, destacando entre elas: diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica (doença

cardiovascular), sendo no conjunto conhecidas como Síndrome Metabólica ou Tétrade da Morte de Kaplan, além de determinadas formas de câncer^{5,6}.

Contudo, pesquisas em obesidade têm despertado o interesse de vários pesquisadores, principalmente em relação à reversão da doença instalada. Poucos estudos têm sido voltados para o entendimento da gênese e instalação temporal dessa doença, o que constitui em um dos principais propósitos do presente estudo. A compreensão dos mecanismos fisiológicos da sua instalação pode ser a chave para a sua prevenção ou mesmo para descoberta de novas estratégias terapêuticas e até mesmo a descoberta de novos fármacos anti-obesidade. Estudos recentes sobre o tecido adiposo têm revelado informações antes inimagináveis sobre o seu importante papel fisiológico na homeostase metabólica do organismo.

O tecido adiposo branco (TAB) é a principal forma de estoque de energia na forma de lipídios e o TAB de diferentes regiões anatômicas tem sido relacionado com a regulação de uma vasta gama de parâmetros metabólicos. A obesidade abdominal com excessivo tecido adiposo subcutâneo e intra-abdominal está relacionada ao aumento da resistência de insulina em humanos. A provável explicação para o fato, é que o TAB intra-abdominal possui um efeito adverso na homeostase da glicose, o que, em humanos, é confirmado em diversos estudos^{7,8,9,10}.

Já é sabido que o TAB é um importante órgão endócrino produtor e secretor de inúmeros peptídeos e proteínas bioativas, denominadas adipocinas ou adipocitocinas, tais como: angiotensinogênio, leptina, adiponectina, interleucina-6 (IL-6), inibidor 1 da ativação de plasminogênio (PAI-1), proteína ligadora de retinol-4 (RBP4), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), resistina entre outros. Essas adipocinas, de certa forma, atuam promovendo um equilíbrio entre proteção e agressão de órgãos-alvo. A adiponectina, por exemplo, exerce efeitos benéficos sobre o balanço energético, sensibilidade insulínica e proteção vascular com potente ação anti-aterogênica. Em contrapartida, com a instalação da obesidade, existe um incremento da produção de algumas destas adipocinas, desencadeando inúmeras disfunções metabólicas, como as citadas no parágrafo anterior. Dentre os responsáveis por essas disfunções pode-se ressaltar o angiotensinogênio, que está

relacionado à hipertensão arterial, o PAI-1, relacionado ao prejuízo da fibrinólise, a o TNF- α , IL-6 e resistina relacionados à resistência à insulina¹¹.

Mediados pelos níveis de glicocorticóides séricos, tem sido mostrado uma maior expressão gênica para a produção de angiotensinogênio nos adipócitos do TAB e nos hepatócitos¹². Essa expressão se manifesta da mesma forma no tecido gorduroso visceral e subcutâneo. É bem conhecido que o substrato angiotensinogênio participa de uma cascata de reações enzimáticas, sendo inicialmente clivado pela renina em angiotensina I, que por sua vez é catalisada pela enzima conversora da angiotensina (ECA), obtendo-se a angiotensina II (All), o mais potente agente hipertensor de ação sistêmica. Esse produto final, i.e, a All, garante a estimulação da produção de prostaciclina (PGI₂), o qual estimula a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos e, além disso, aumenta a lipogênese e o estoque de triglicerídeos nessas células^{13,14}.

A adiponectina, por sua vez, é uma proteína secretante colágeno-simile, expressada abundante e especificamente no TAB, com predomínio no sítio visceral. Possui uma relação negativa com o IMC e à área de gordura visceral abdominal. Ou seja, quanto maior o IMC, menor os níveis de adiponectina sérica. Em contrapartida, a adiponectina não promove esse mesmo efeito com a gordura subcutânea abdominal. Além desta função, apresenta atividade angiogênica, anti-aterogênica, mediada através da inibição da adesão de monócitos ao endotélio, e inibição da transformação de macrófagos em células espumosas (*foam-cells*), participando da homeostase dos lipídios e da glicose no organismo. Isso porque, potencializa a ação da insulina em nível hepático e reduz a produção da glicose pelos hepatócitos. Vale ressaltar, que promove a oxidação das gorduras, a partir da redução dos níveis de triglicerídeos nos sítios hepáticos e musculares. Por fim, aumenta a vasodilatação endotélio-dependente e independente, reduzindo a expressão do TNF- α e, por conseguinte, sua ação inflamatória no endotélio^{15,16}.

O TNF- α é expresso nos adipócitos e ausente nos pré-adipócitos. A sua dosagem em pacientes com IMC elevado correlaciona-se positivamente com a hiperinsulinemia, que é considerada uma medida indireta da resistência à insulina¹⁷.

Por outro lado, essa citocina atua negativamente com a atividade da lipase lipoprotéica (LPL) no tecido gorduroso, ou seja, causando inibição da lipogênese. Existem ainda indícios de que essa citocina tenha um efeito local, promovendo a regulação do adipócito em virtude do aumento do consumo calórico, funcionando assim como um "adipostato local"^{17,18,19}, ou seja, atuando como um sensor para regulação da produção adipocitária. Contudo, o "adipostato central" é o mais importante determinante do padrão energético geral do organismo²⁰.

Tem sido descrito atualmente, que este adipostato participa da via metabólico-energética do sistema do neuropeptídeo Y (NPY), ou seja, em um estágio inicial, neurônios de primeira ordem no núcleo arqueado do hipotálamo seriam ativados pela leptina produzida pelo TAB. Esta por sua vez, induz a expressão da pró-ópio-melanocortina (POMC), que é um pró-hormônio. Esse precursor hormonal, ao sofrer ação das pró-hormônios convertases, gera, como produtos finais, as seguintes moléculas bioativas: corticotrofina (ACTH), beta-endorfinas e melanocortinas [MSH (α , beta e gama)]^{21,22,23,24,25}. Os receptores de melanocortina 3 (MCR3) e o 4 (MCR4), expressos no SNC, estão relacionados com o controle do peso corporal no indivíduo, sendo o MCR3, localizado no núcleo arqueado, correlaciona-se com o gasto energético e o MCR4, localizado em neurônios de segunda ordem, correlaciona-se com a ingestão alimentar^{21,22}. Entretanto, questionamos o papel único do "adipostato central" na gênese e perpetuação da obesidade. Ou seja, não seria ele um amplificador da doença a partir de substâncias produzidas pelo próprio tecido adiposo, tal como o TNF- α ("adipostato local") e leptina? Seria uma quebra de paradigma.

A leptina (do grego *leptos* = magro) é um hormônio peptídico de 167 aminoácidos, que possui estrutura semelhante às citocinas do tipo interleucina 2 (IL-2). É produzida principalmente no tecido adiposo e constitui-se num mecanismo de sinalização direta para o Sistema Nervoso Central (SNC)²⁶, gerando informações sobre o tamanho das reservas de gordura. Fisiologicamente, o aumento dos níveis circulantes da leptina leva à redução da ingestão alimentar e aumento do gasto calórico²¹. Essas respostas induzidas pela leptina são devido ao seu efeito dual ao nível do núcleo arqueado do hipotálamo, ou seja, promove a inibição da expressão

de neuropeptídeos orexígenos (NPY e proteína relacionada a agouti - AgRP) e aumento da expressão de neuropeptídeos anorexígenos (POMC e o transcrito regulado pela cocaína e anfetamina - CART), sendo que o efeito anorexigênico do POMC é devido à ação do seu metabólito α -MSH^{21,22,23,24}. Para visualizar essas vias orexígenas e anorexígenas e a expressão de seus neuropeptídeos, vide Figura 1 e Figura 2 no Anexo A.

Entretanto, a população obesa apresenta níveis circulantes de leptina elevados, o que sugere uma resistência orgânica aos seus efeitos anorexigênicos²⁷. Isto deixa transparecer que em humanos, possivelmente ocorra uma falha no mecanismo de ativação do receptor da leptina pelo seu ligante específico²¹. Um possível defeito no transportador desse hormônio-chave para o SNC na obesidade foi sugerido a partir de estudos seriados da relação líquido/sangue em indivíduos obesos, porém a etiologia dessa alteração não está bem elucidada²¹. Por outro lado, uma discreta redução na secreção de leptina pelo TAB seria identificada pelo "adipostato central" promovendo, dessa forma, um aumento da massa adipocitária, que teria como intuito restabelecer os níveis de leptina. Dessa forma, esse hormônio atua como um regulador fisiológico do *set point* do "adipostato central". Isso reforça a hipótese da existência de um eixo adipócito-êntero-gastro-cerebral envolvida na gênese e perpetuação da obesidade.

A IL-6, outro mediador pró-inflamatório, no tecido adiposo, tem sua atividade proporcional à massa de gordura do indivíduo²⁸. A sua produção é induzida pelo TNF- α , ocorrendo em maior quantidade nos sítios de adipócitos omentais, em detrimento dos adipócitos subcutâneos. Dentre as ações desencadeadas pela IL-6, pode-se citar a redução da atividade da LPL. Em conjunto com o TNF- α , desencadeia maior fluxo de ácidos graxos para o fígado, o que é de particular importância se levar em consideração que esta interleucina, em nível hepático, aumenta a secreção de triglicerídeos²⁹.

Dessa forma, em indivíduos portadores de obesidade visceral, observa-se a presença constante de hipertrigliceridemia. Além de atuar como um regulador autócrino e/ou parácrino da função do tecido adiposo, estimula a síntese de

proteínas de fase aguda¹, sendo um gatilho para a exacerbação da função do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal^{30,31}.

Como acima citado, os esteróides sexuais estão diretamente envolvidos no acúmulo, distribuição e metabolismo do tecido adiposo³². A conversão de androgênio em estrogênio ocorre através de uma reação enzimática sediada no tecido adiposo, denominada *aromatização*, a qual é mediada pela aromatase P450, estando forte e positivamente relacionada ao peso corporal (obesidade). Em função do processo de envelhecimento e da obesidade, existe aumento da transcrição da aromatase P450 no tecido adiposo subcutâneo e visceral e nas células estromais (pré-adipócitos), estimulado por níveis elevados de insulina e cortisol^{33,34}. A conversão periférica de androstenediona em estrona, gera aumento da relação estrona/estradiol, associada a aumento de risco para hiperplasia endometrial e carcinoma hormônio-sensível em mulheres^{32,33,34}.

O tecido adiposo, sede do depósito e metabolismo do retinol, sintetiza e secreta a RBP-4. O significativo decréscimo de peso corporal alcançado tanto por dieta, exercício físico aeróbico ou pela cirurgia bariátrica, promove redução do seu nível circulante^{35,36,37}, melhorando a sensibilidade da insulina, de maneira muito mais específica que adiponectina³⁶. A mobilização do retinol nos adipócitos parece estar mais relacionada com a hidrólise de éster de retinol, via adenosina monofosfato cíclico (AMPC) hormônio sensível do que em relação à produção do próprio RBP-4^{38,39,40}. Conforme demonstrados em estudos recentes, foi detectado que não há expressão de RNA mensageiro para RBP-4 no tecido adiposo subcutâneo, sendo assim, atualmente, essa citocina é considerada um importante marcador de gordura visceral^{37,41,42}.

Para o estudo experimental da obesidade, foram desenvolvidos modelos animais

¹ As proteínas de fase aguda (PFA) são produzidas principalmente no fígado em resposta a qualquer injúria tecidual, tendo como propósito restaurar a homeostase e remover a causa inicial do desequilíbrio. As PFA são classificadas como *negativas* (albumina e transferrina) que são aquelas que apresentam diminuição das suas concentrações durante a resposta de fase aguda (RFA) e *positivas* (proteína C-reativa, amilóide sérico A, haptoglobina, α 1-glicoproteína ácida, ceruloplasmina e fibrinogênio) que são aquelas que aumentam suas concentrações na injúria tecidual.

que desencadeiam essa entidade nosológica. São conhecidas quatro técnicas: lesão química (glutamato monossódico – MSG) ou eletrolítica do núcleo arqueado e núcleo ventromedial do hipotálamo, ovariectomia e a introdução de dieta hipercalórica (dieta de cafeteria)⁴³. Existe ainda o modelo genético constituído por ratos e camundongos *knockout* para genes reguladores/indutores da obesidade.

O presente estudo utilizou a lesão química pelo MSG para induzir a obesidade em ratos. A administração desse aminoácido excitatório em ratos recém-nascidos promove a destruição dos núcleos arqueado e ventromedial do hipotálamo, gerando um desequilíbrio entre o ganho e o gasto calórico⁴³. Essa alteração central só é possível, uma vez que os ratos neonatos apresentam a barreira hemato-encefálica pérvia. As consequências metabólicas resultantes das lesões hipotalâmicas ao MSG não são totalmente conhecidas. Dessa forma, esse modelo experimental constitui-se em uma importante ferramenta para o estudo indução e perpetuação da obesidade, que são alguns dos principais objetivos do presente estudo.

Tem-se obtido com o uso do MSG inúmeras mudanças relacionadas com a ausência de controle do eixo hipotálamo-hipofisário dose-dependente, promovendo quadros de normofagia e ou hipofagia, menor produção de hormônio de crescimento (GH), obesidade, hipoatividade, redução do peso ovariano, puberdade tardia, altos níveis séricos de corticosteroides, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, menor atividade da proteína 4 translocadora de glicose (GLUT-4), menor atividade do tecido adiposo marrom e maior deposição de gordura branca visceral. Há aumento sérico de leptina o que, em parte, é responsável pelo aumento dos níveis de glicocorticoides secretados pela glândula adrenal em ratos adultos. O MSG desperta a curiosidade do mundo acadêmico, por conta de ser uma substância constituinte de diversos alimentos consumidos diariamente. Dessa forma, estudos têm sido desenvolvidos para avaliar o grau de interferência no organismo dessa substância quando ingerido por via oral^{20,43,44}.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Estudar a gênese e o desenvolvimento da obesidade em animais submetidos à lesão hipotalâmica através do MSG.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desenvolvimento da obesidade em animais submetidos à lesão hipotalâmica através do MSG.
- Avaliar a distribuição territorial dos TABs em machos e fêmeas controle e submetidos à lesão hipotalâmica através do MSG.
- Avaliar a distribuição territorial do TAB abdominal em machos e fêmeas controle e submetidos à lesão hipotalâmica através do MSG.
- Avaliar a distribuição territorial do TAB visceral em machos e fêmeas controle e submetidos à lesão hipotalâmica através do MSG.

3 JUSTIFICATIVA

Devido o aumento da obesidade, tanto em países desenvolvidos quanto em países subdesenvolvidos e sua correlação positiva com doenças cardiovasculares incluindo, nesse contexto, a síndrome metabólica, que tem ação devastadora na sobrevida do indivíduo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Para este estudo foram utilizados filhotes de ratas *Wistar (WKY)* gestantes provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram mantidos em caixa de polipropileno, com controle de claro/escuro (12/12h), com livre acesso à água e à ração balanceada. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas para pesquisa biomédica que determinam os cuidados para o uso do animal de laboratório em ensaios experimentais, como indicado pela Federação das Sociedades de Biologia Experimental. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – número de aprovação 31/2011) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

4.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

TABELA 2 – Divisão dos grupos experimentais em tipo de tratamento, sexo e semanas de vida

GRUPO	SEMANAS								
	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Grupo CON ♂	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5
Grupo MSG ♂	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5
Grupo CON ♀	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5
Grupo MSG ♀	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5	N=5

CON(Controle) ; MSG (Glutamato Monossódico).

4.3 INDUÇÃO DO MODELO DE OBESIDADE

A obesidade foi induzida nos animais por administração subcutânea (SC) de uma solução de MSG na concentração de 4 mg/g (SC) durante a fase neonatal dos ratos (2° a 11° dia de vida). Este grupo foi denominado "GRUPO MSG". Um grupo distinto de ratos, utilizados como controle, foi submetido ao mesmo procedimento, porém com injeções diárias de uma solução de salina hipertônica (1,25 %), denominado

“GRUPO SAL”. Aos 21 dias de vida, os animais foram desmamados, separados em grupos e foi introduzida ração *ad libitum*.

4.4 REMOÇÃO CIRÚRGICA DOS TECIDOS ADIPOSOS

Após a decaptação, os seguintes TABs foram isolados e coletados: Parietal (PT) ou Extra-peritoneal, Peri-gonadal (epididimal – EP- e parametria - PM), Omental (OM), Peri-renal (PR) e Retro-peritoneal (RP).

Para tanto, os seguintes procedimentos cirúrgicos foram seguidos:

- a) A tricotomia da região abdominal anterior e face ântero-medial das patas traseiras (coxas) com máquina de depilação elétrica (Mallory) foi feita na véspera, sob anestesia com Halotano (inalatório), quando da determinação do índice de Lee;
- b) Após a decapitação para coleta de sangue, o animal foi fixado na prancha de procedimento cirúrgico em decúbito dorsal, com as quatro patas fixadas com fita adesiva;
- c) COLETA DE TAB PARIETAL: Inicialmente foi feito o pinçamento da prega cutânea com pinça tipo dente de rato da região inguinal e incisão com tesoura no ponto médio da coxa, estendendo até próximo da articulação do joelho. A seguir, foi feita a divulsão com tesoura, para descolamento do TAB parietal, interessando coxa, região inguinal e peri-gonadal, bilateralmente. Por fim, foi feito o descolamento da projeção adiposa nos flancos até a reflexão entre abdome ventral e dorso-lombar. Se necessária, foi feita a hemostasia dos vasos sangrantes por pinçamento.
- d) COLETA DE TAB INTRA-ABDOMINAL: Inicialmente foi feita uma abertura mediana xifo-pubiana. A seguir, foi feito o pinçamento do coxim adiposo peri-gonadal, que nos machos é tracionada para exposição testicular e

- individualização por planos da gordura peri-epididimal; Nas fêmeas foi tracionado o útero e seccionadas as projeções do TAB parametrial;
- e) Foi feita a tração do baço e do estômago, expondo a curvatura maior do mesmo para realizar a ressecção do omento maior;
- f) Rebatendo-se lateralmente os intestinos, visualiza-se o rim e sua gordura peri-renal; tracionado-se o rim, expõem-se os limites desta gordura, facilitando assim o descolamento, individualização e ressecção da mesma;
- g) Após a ressecção renal, do TAB peri-renal e do TAB supra-renal a gordura retro-peritoneal é facilmente exposta. Esta foi ressecada desde a região pélvica até abaixo da inserção do diafragma, bilateralmente. A parede muscular tóraco-abdominal é o limite lateral e a coluna dorsal o limite medial.

Todos os TABs acima foram devidamente pesados em balança de precisão (AND – GR-200) com seus valores anotados em planilha de dados e armazenados em frasco de plástico identificados contendo formol em tampão fosfato (PBS: 0,1 M; pH 7,4).

4.5 DETERMINAÇÃO DO PESO CORPORAL E ÍNDICE DE LEE

Para a determinação do índice de Lee, no dia anterior a decaptação, os animais foram anestesiados pela inalação com halotano, pesados e tiveram seus comprimentos naso-anais medidos com régua de plástico (centímetros). Para tanto, foi utilizada balança eletrônica Filizzola, modelo MF-3.

Índice de Lee =

$$\frac{\sqrt[3]{\text{massa corporal (g)}}}{\text{comprimento focinho-ânus (cm)}} \cdot 1.000$$

4.6 CLASSIFICAÇÃO DOS TABs

4.6.1 Visceral

Os tecidos correspondentes para esse grupo são OM, PR. PM/EP.

4.6.2 Extra- visceral

Os tecidos correspondentes para esse grupo são PT e RP.

4.6.3 Intra-abdominal

Os tecidos correspondentes são OM, PR. PM/EP e RP.

4.6.4 Extra-abdominal

O tecido correspondente é o PT.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram expressos como Média \pm EPM. A análise estatística foi realizada através do método de Análise de Variância (ANOVA) de duas vias com *pos hoc* de Fischer LSD. As significâncias estatísticas foram fixadas em $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Fêmeas do grupo controle apresentaram um PC menor em relação aos machos a partir da 7ª semana. No grupo MSG, as fêmeas foram observadas apenas na 10ª e 12ª semana. Machos do grupo MSG apresentaram valores significativamente menores que o grupo controle a partir da 7ª semana. Já fêmeas MSG foram observadas apenas na 7ª e 11ª semana

Na figura 1 apresentamos os valores de peso corporal dos grupos controle e MSG. Como podemos observar, as fêmeas do grupo controle apresentaram um peso corporal significativamente menor em relação aos machos a partir da 7ª semana (figura 1, painel superior). No grupo glutamato, diferenças significativas nas fêmeas foram observadas apenas na 10ª e 12ª semana (figura 1, painel inferior). Quando esses dados foram separados por grupo de tratamento, observamos que os machos do grupo MSG apresentaram valores significativamente menores que o grupo controle a partir da 7ª semana (figura 2, painel superior). Em relação as fêmeas, as diferenças no grupo MSG foram observadas apenas na 7ª e 11ª semana (figura 2, painel inferior).

Na figura 3 apresentamos os valores de comprimento naso-anal. Podemos observar que no grupo controle, as fêmeas apresentaram valores significativamente menores em relação aos machos a partir da 7ª semana (figura 3, painel superior). Em relação ao grupo glutamato, as fêmeas apresentaram valores significativamente menores apenas na 10ª e 12ª semana (figura 3, painel inferior). Na avaliação por grupo de tratamento, observamos que os machos do grupo MSG apresentaram valores significativamente menores a partir da 6ª semana (figura 4, painel superior), enquanto que o mesmo não foi observado nas fêmeas (figura 4, painel inferior).

Na figura 5 apresentamos os valores do índice de Lee. Podemos observar que não houveram diferenças significativas entre machos e fêmeas do grupo controle (figura 5, painel superior), enquanto que no grupo MSG apenas na 10ª semana observou-se um valor significativamente maior nas fêmeas (figura 5, painel inferior). Quando os dados foram avaliados por grupo de tratamento, observamos que nos machos o

índice de Lee apresentou-se significativamente maior no grupo MSG a partir da 8ª semana (figura 6, painel superior). Em relação às fêmeas apenas na 10ª semana foi observada diferença significativa no grupo MSG em relação ao controle (figura 6, painel inferior).

Nesse estudo, os TABs foram agrupados em intra e extra-abdominais. Os tecidos omental, perirrenal, gonadal (epididimal/parametrial) e retro-peritoneal foram considerados intra-abdominal de acordo com a sua posição topográfica. O tecido parietal, por sua vez, foi considerado extra-abdominal. Na figura 7, apresentamos, inicialmente, os TABs intra-abdominal. Observamos que não houveram diferenças significativas entre machos e fêmeas no grupo controle (figura 7, painel superior), enquanto que no grupo MSG, as fêmeas apresentaram valores significativamente maiores a partir da 9ª semana. Quando esses dados foram comparados por grupo de tratamento, observamos que tanto os machos quanto as fêmeas apresentaram valores significativamente maiores no grupo MSG em relação aos seus respectivos grupos controle a partir da 6ª semana (figura 8, painel superior e inferior, respectivamente).

Em relação ao TAB extra-abdominal (Figura 9), observamos alterações pontuais no grupo controle, ou seja, diferenças significativas nas fêmeas em relação aos machos foram observadas apenas na 7ª e 11ª semanas (painel superior), enquanto que no grupo MSG, as fêmeas apresentaram valores significativamente menores que os machos apenas na 12ª semana (painel inferior). A avaliação por grupo de tratamento mostrou que ambos os machos e as fêmeas do grupo MSG apresentaram valores maiores que o grupo controle, porém os machos apresentaram diferença estatística a partir da 5ª semana, enquanto que nas fêmeas, essas diferenças foram observadas a partir da 6ª semana (Figura 10).

Os TABs também foram agrupados quanto a sua localização morfo-funcional como visceral e extra-visceral. No primeiro foram agrupados os TABs omental, perirrenal e gonadal. No segundo, os TABs parietal e retro-peritoneal. Os resultados mostraram que no grupo controle, o TAB visceral nas fêmeas foi significativamente maior na 7ª, 9ª, 10ª e 12ª semanas em relação aos machos (Figura 11, painel superior). No grupo

MSG, as fêmeas apresentaram valores significativamente maiores a partir da 8ª semana (Figura 11, painel inferior). Na comparação por grupo de tratamento, os machos do grupo MSG apresentaram valores significativamente maiores que o grupo controle a partir da 8ª semana (Figura 12, painel superior), enquanto que nas fêmeas essas diferenças foram observadas a partir da 6ª semana (Figura 12, painel inferior).

Por fim, a avaliação do tecido extra-visceral mostrou que no grupo controle, as fêmeas apresentaram diferenças significativas em relação aos machos apenas na 7ª e 11ª semanas, enquanto que no grupo MSG não foram observadas diferenças significativas (figura 13). Na comparação por grupo de tratamento, tanto os machos quanto as fêmeas apresentaram valores significativamente maiores no grupo MSG em relação ao grupo controle a partir da 6ª semana (Figura 14).

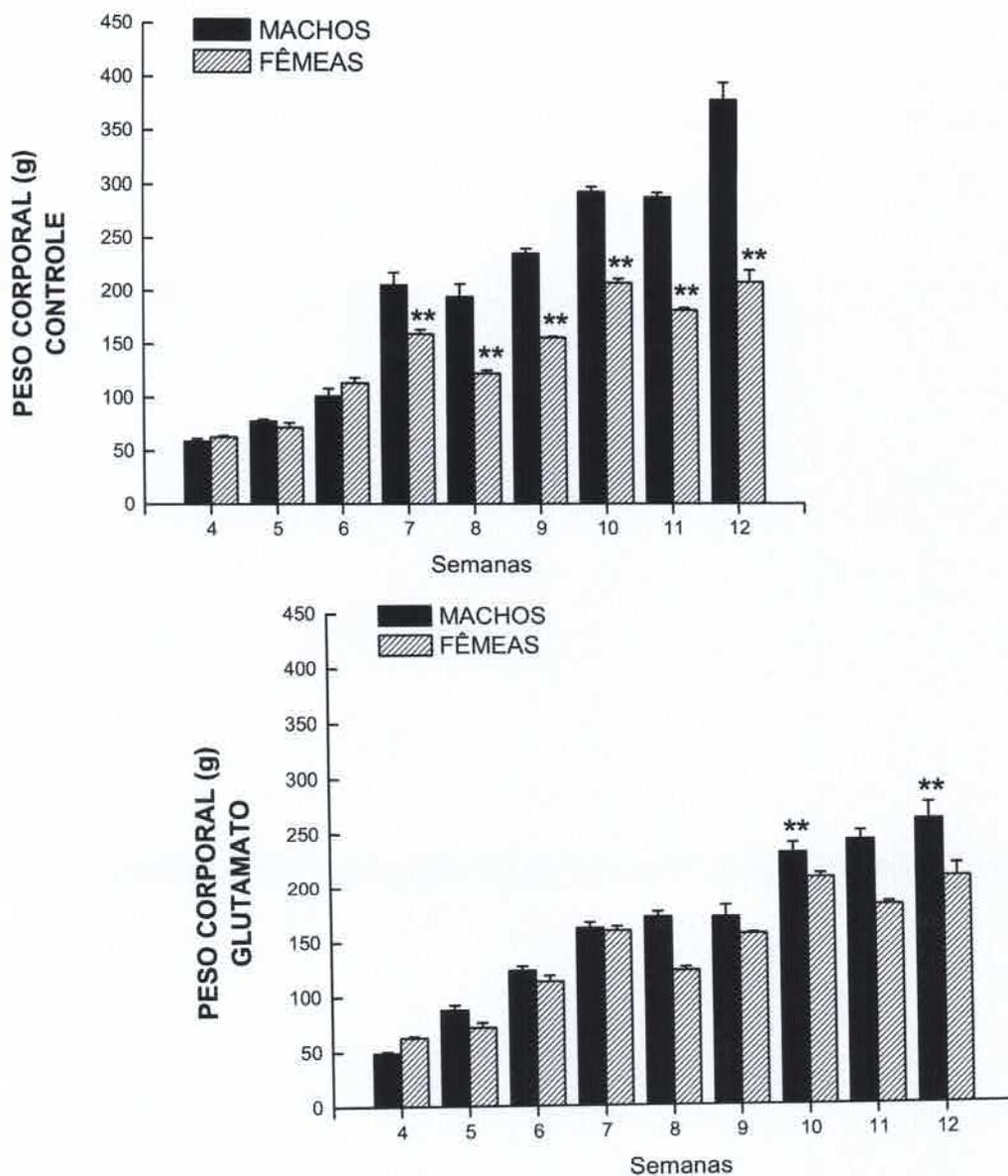


Figura 1 – Peso Corporal de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

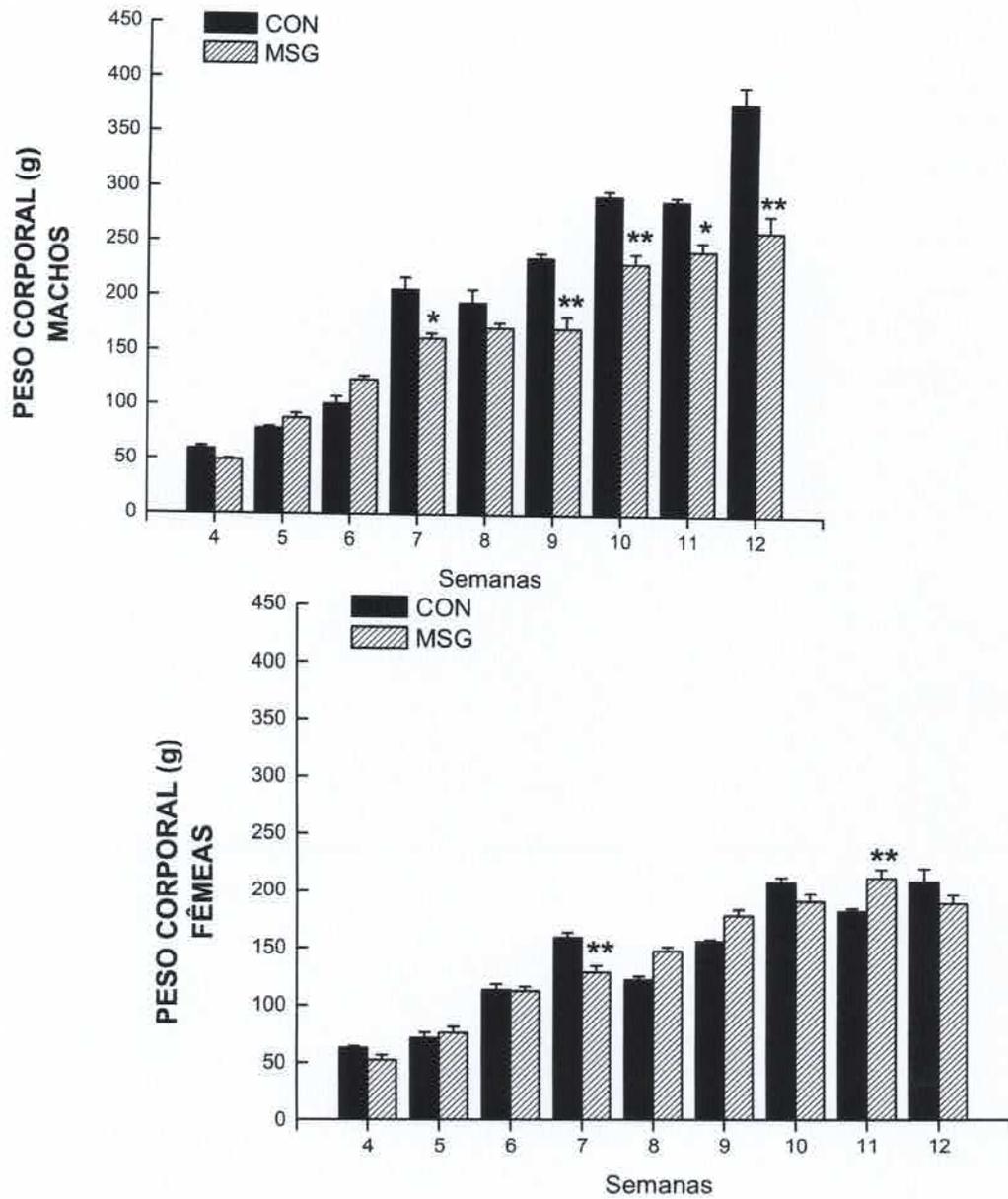


Figura 2 – Peso Corporal de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

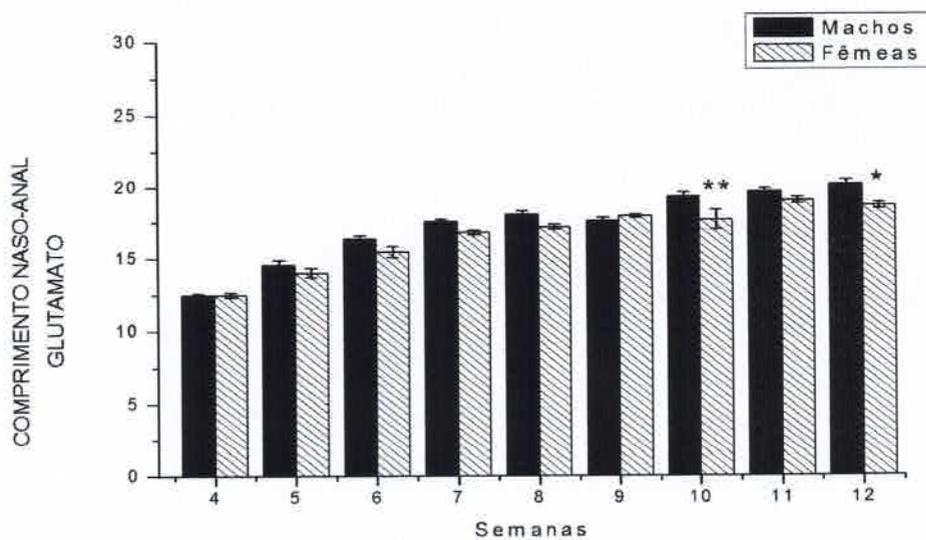
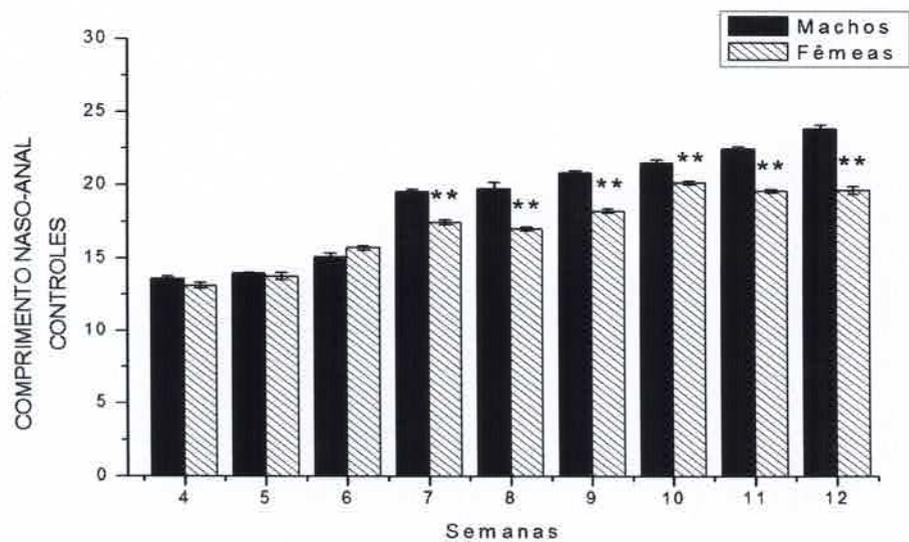


Figura 3 – Comprimento naso-anal de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

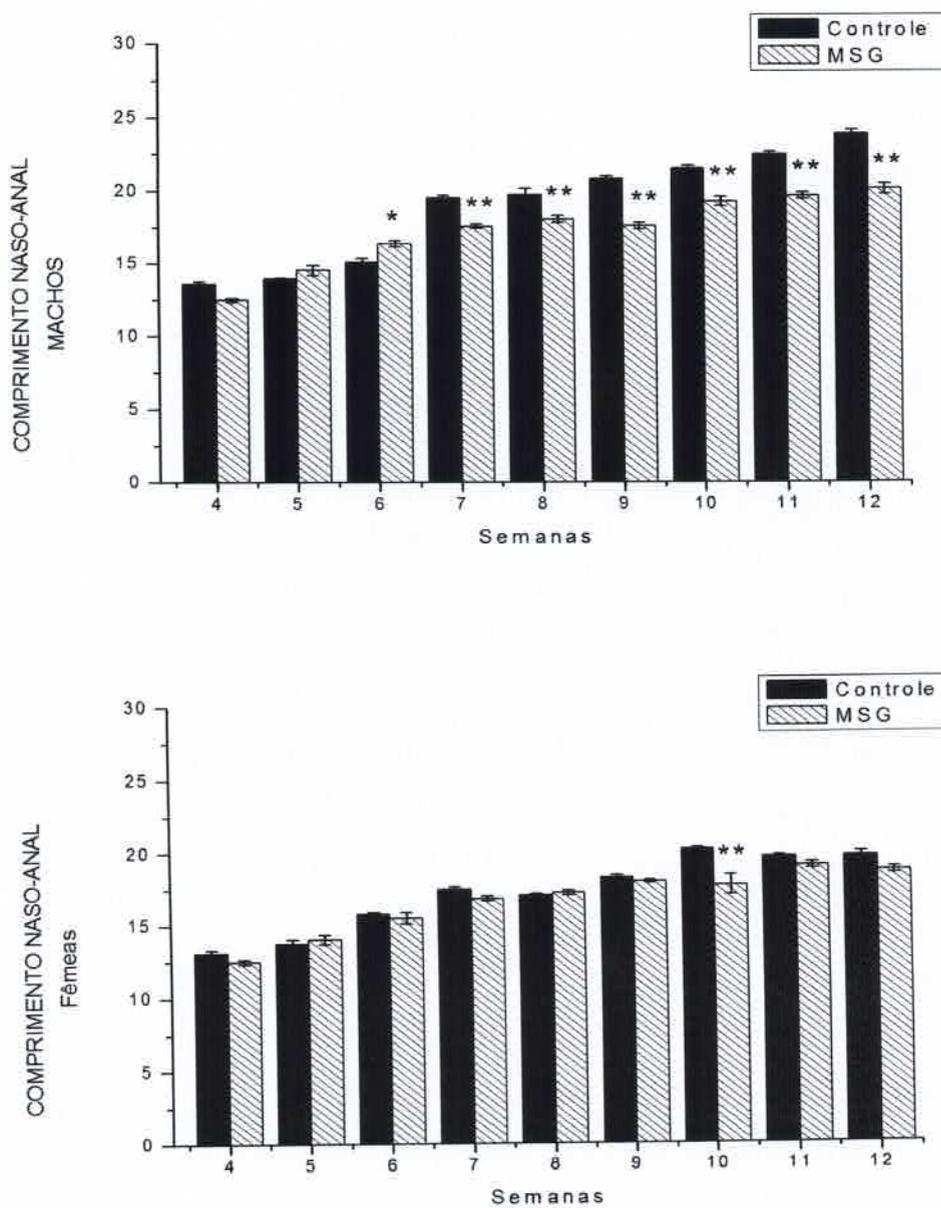


Figura 4 – Comprimento naso-anal de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

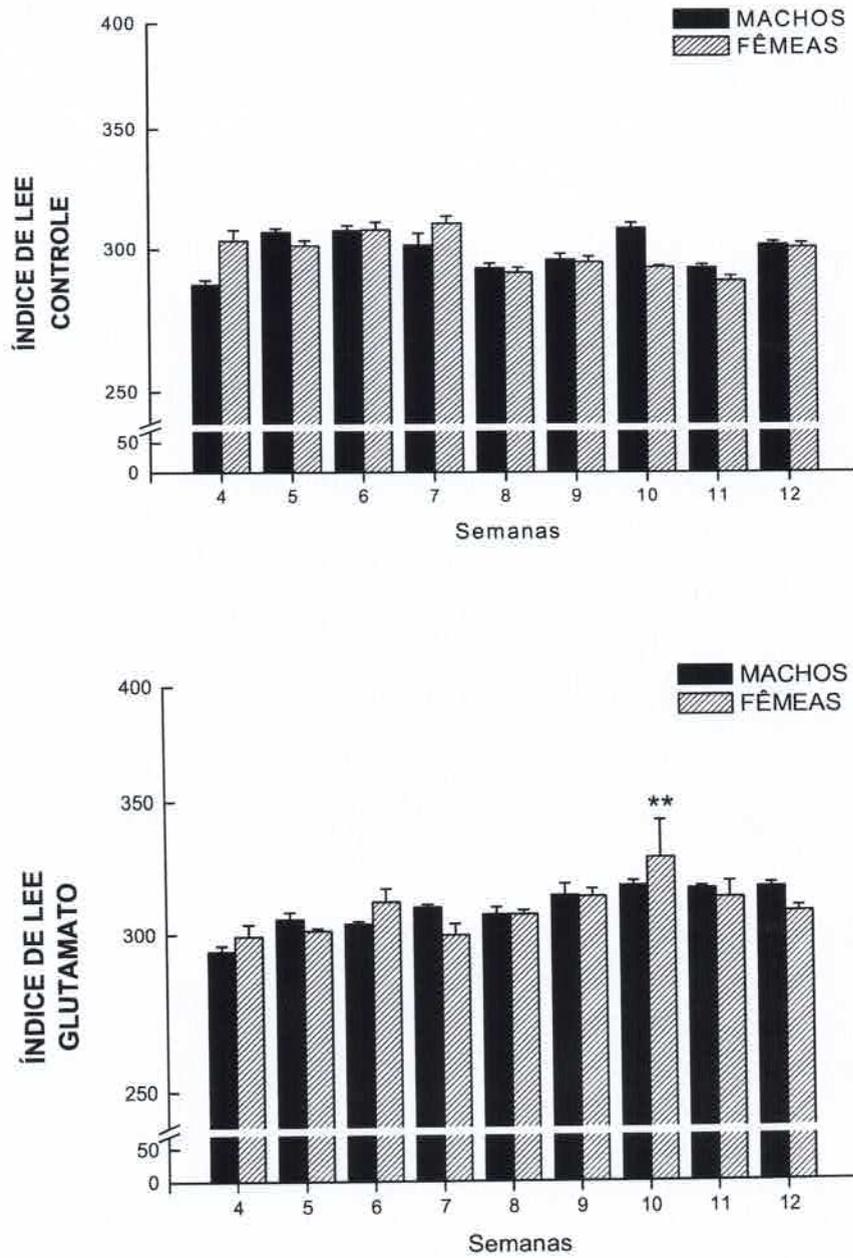


Figura 5 – Índice de Lee de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

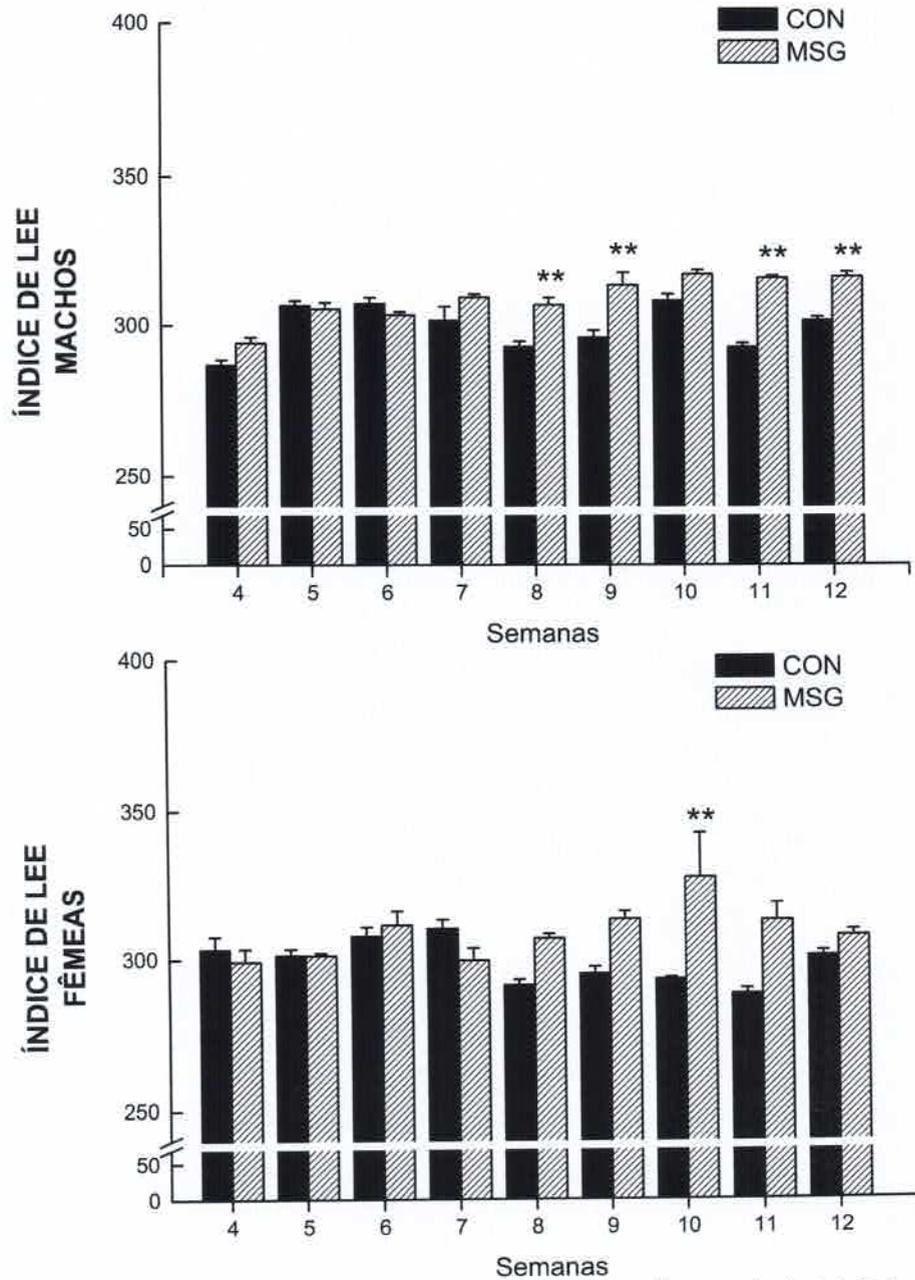


Figura 6 – Índice de Lee de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

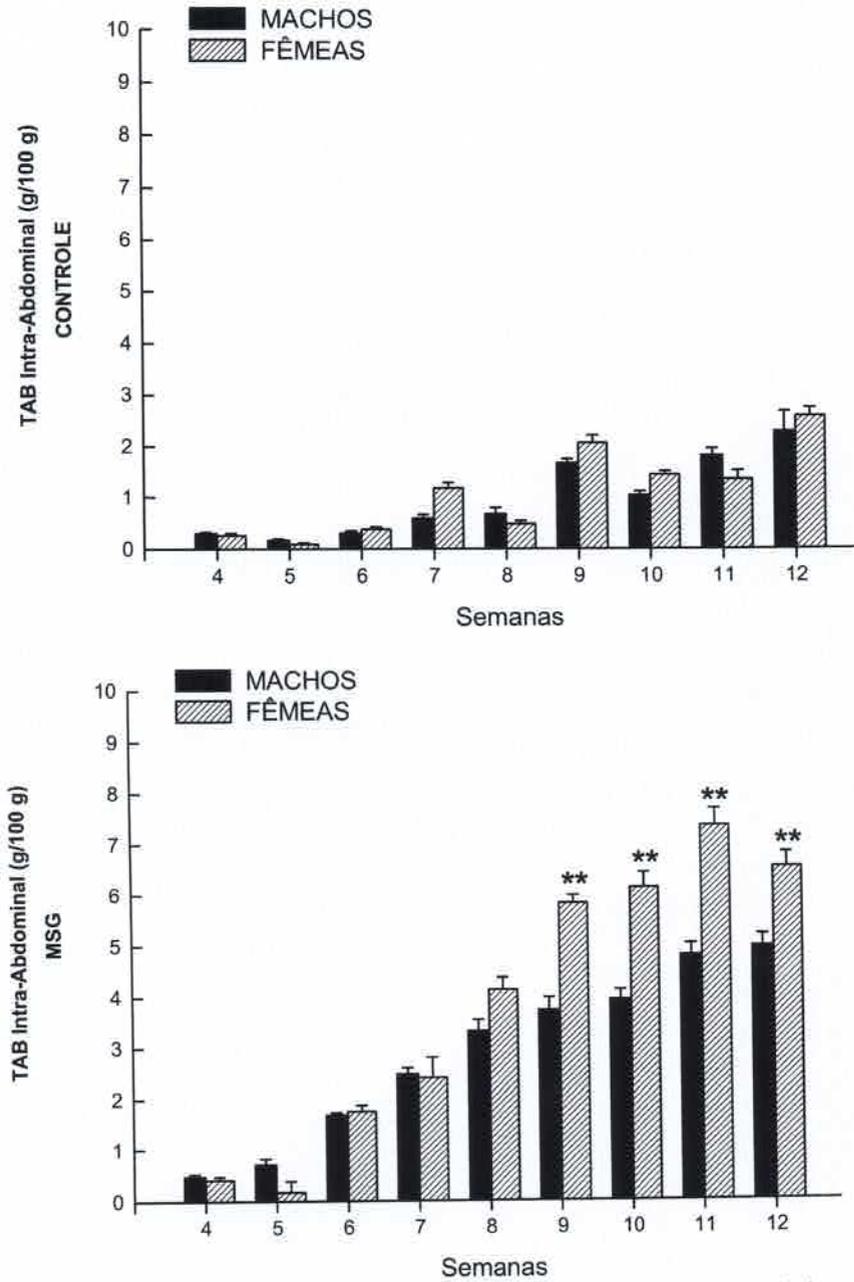


Figura 7 – TAB Intra-abdominal de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4^a a 12^a semana de vida. ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

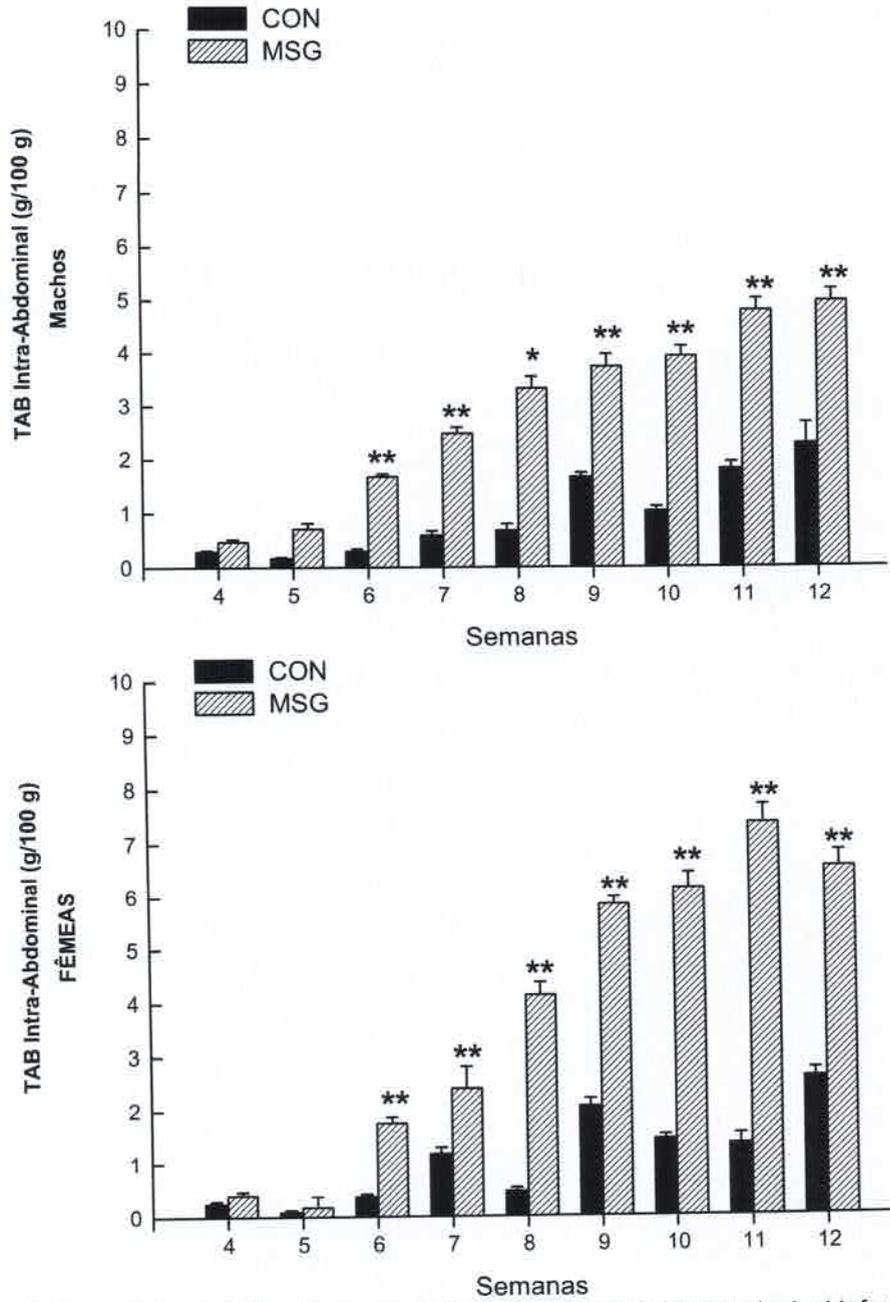


Figura 8 – TAB Intra-abdominal de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4^a a 12^a semana de vida. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

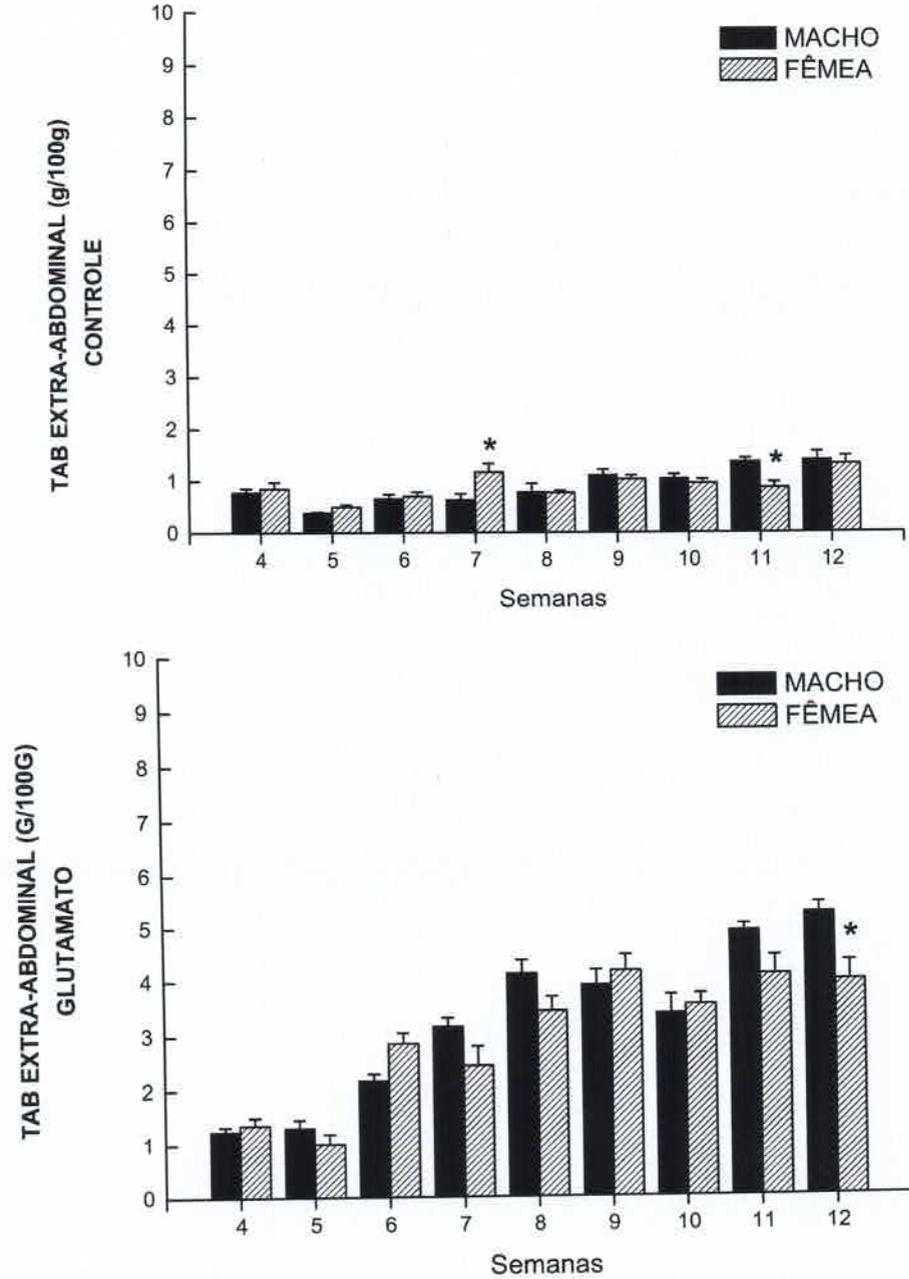


Figura 9 – TAB Extra-abdominal de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. * $p < 0,05$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

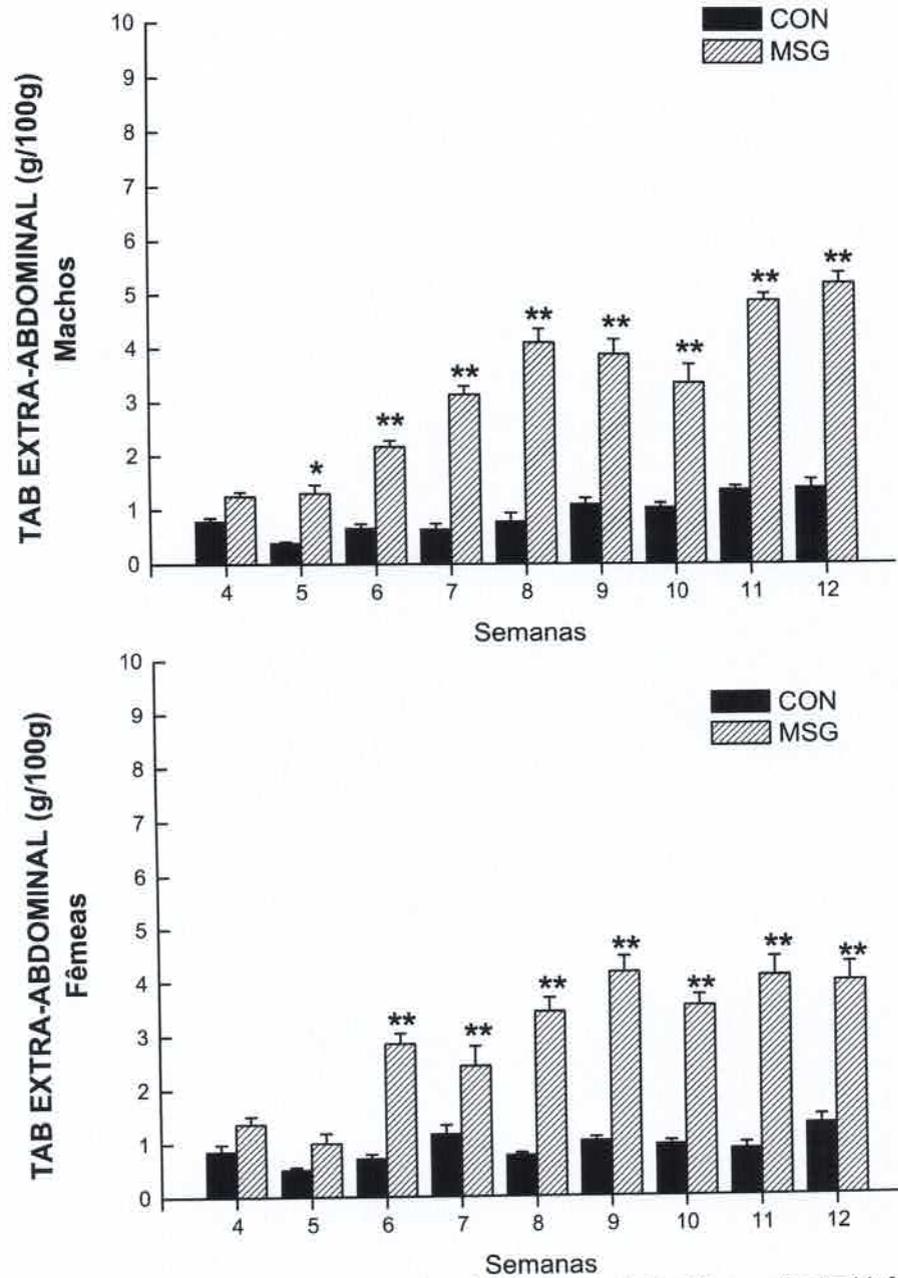


Figura 10 – TAB Extra-abdominal de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

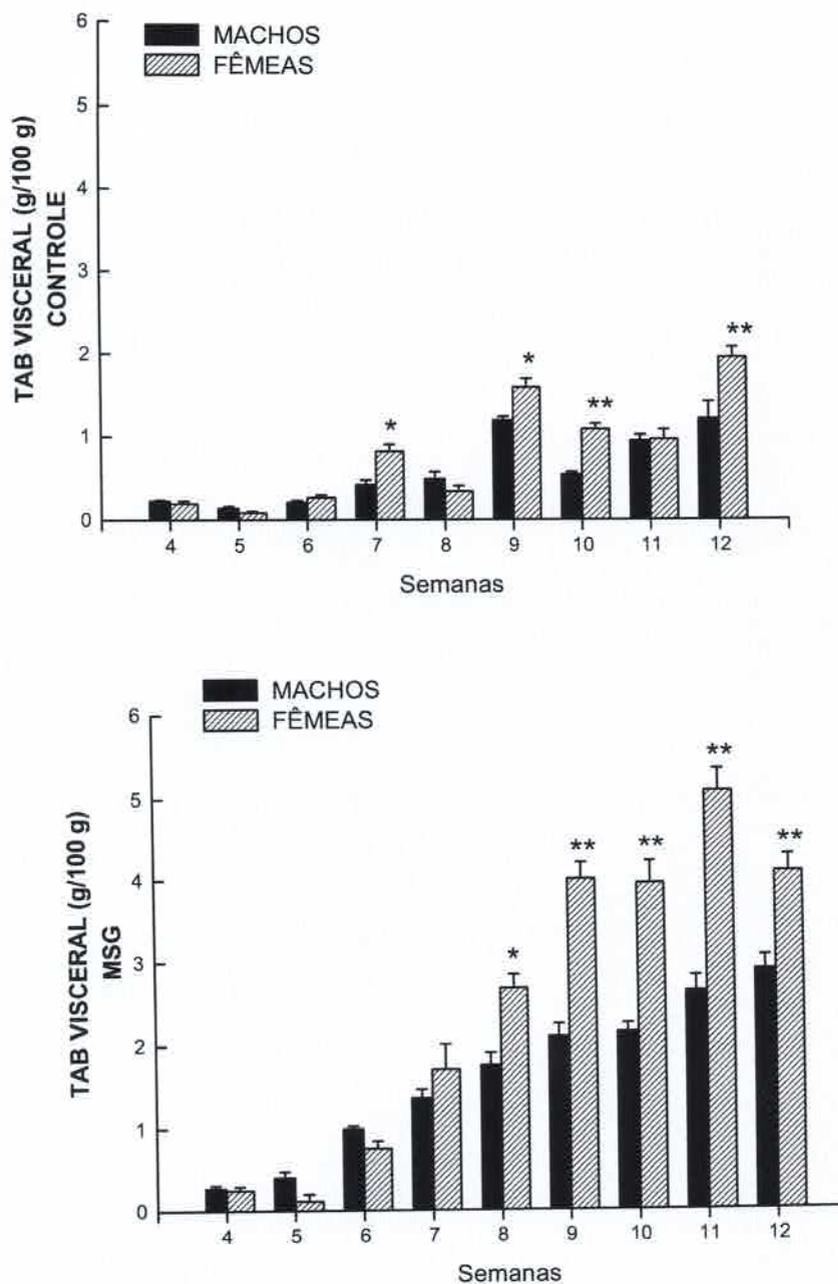


Figura 11 – TAB Visceral de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. *p<0,05 e **p<0,01, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

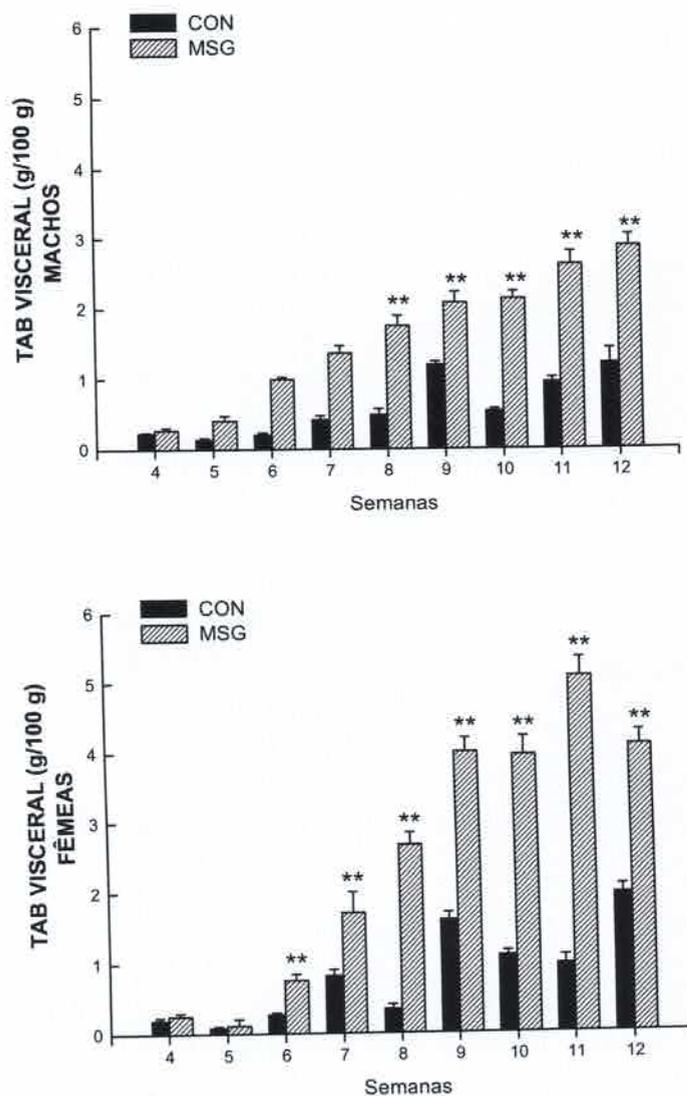


Figura 12 – TAB Visceral de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

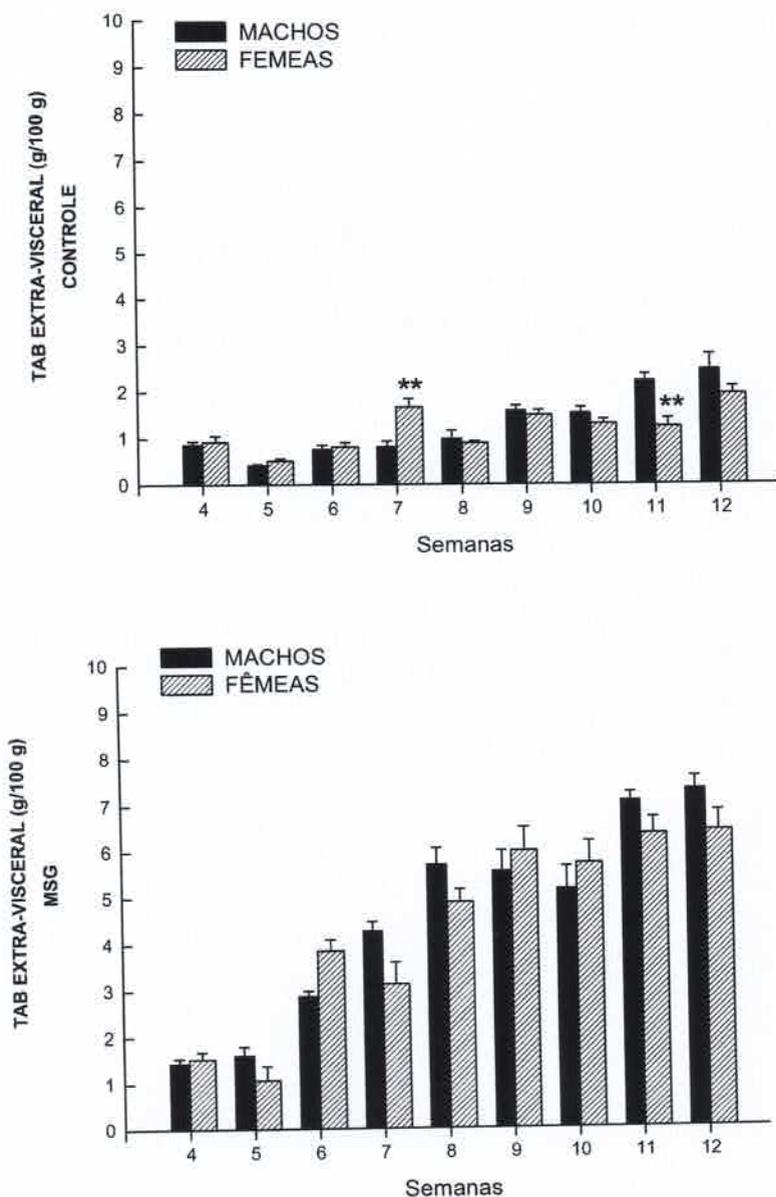


Figura 13 – TAB Extra-visceral de ratos machos e fêmeas controle (painel superior) e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

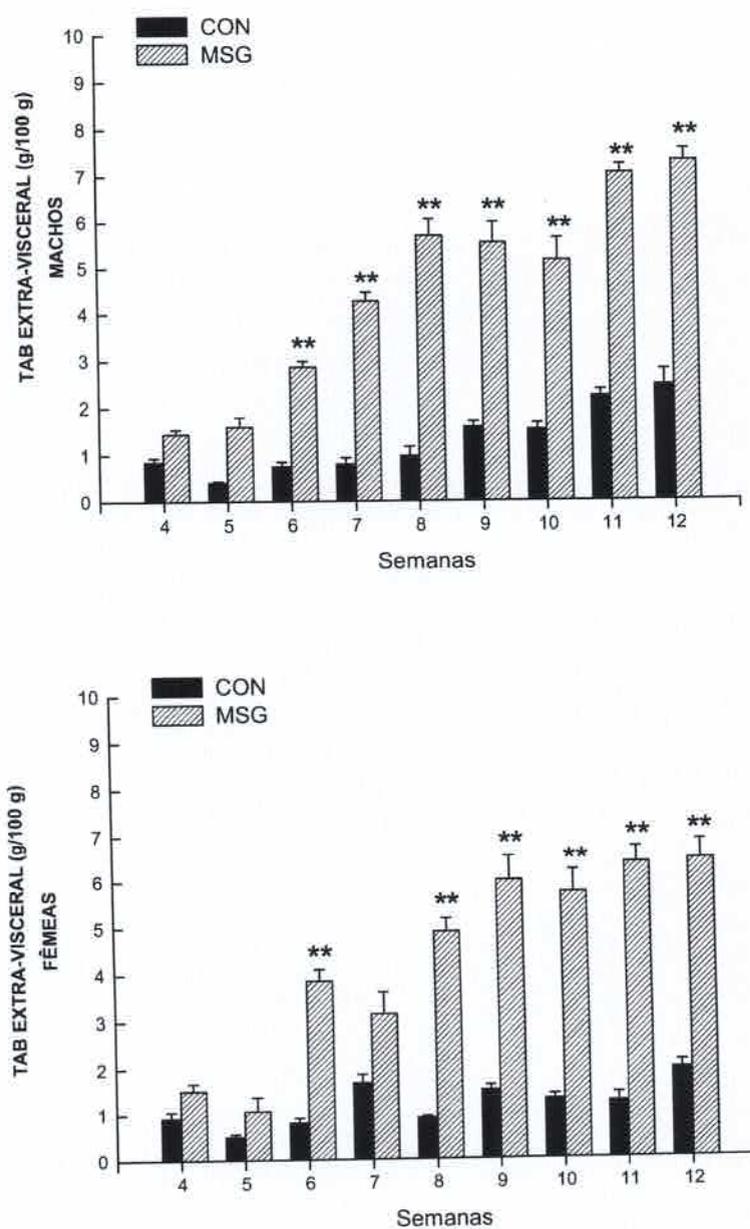


Figura 14 – TAB Extra-visceral de ratos machos (painel superior) e fêmeas (painel inferior) controle e submetidos ao tratamento com MSG (painel inferior) da 4ª a 12ª semana de vida. ** $p < 0,01$, diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle.

6 DISCUSSÃO

6.1 PESO CORPORAL E COMPRIMENTO NASO-ANAL

Ao analisar o peso corporal (PC) e o comprimento naso-anal (CNA) dos ratos controles, foi observado que os machos apresentaram tanto PC quanto CNA significativamente maiores que as fêmeas do mesmo grupo. O mesmo não ocorreu quando comparamos os grupos MSG, onde foram observadas apenas diferenças pontuais entre os gêneros. As fêmeas obesas têm o PC e o CNA semelhantes aos dos machos obesos.

Curiosamente, quando confrontados o grupo tratado foi observado que os machos controle tem o PC e CNA significativamente maiores que os machos obesos. O mesmo não foi encontrado entre as fêmeas.

Com relação somente ao PC, experimentos de Yong-Woon Kim *et al* (1999) resultados semelhantes foram encontrados. Em seus estudos, foi relatado que o PC dos ratos tratados com MSG foi significativamente menor quando comparado com os respectivos controles entre a 7^a e 15^a semanas, sem distinção de gênero.⁴¹

Os resultados encontrados nos machos após a promoção da toxicidade central pelo MSG mostraram que os mesmos a partir da 9^a semana de vida passaram a apresentar um PC significativamente inferior ao grupo controle do mesmo sexo. Embora não tenhamos dosado níveis séricos de GH, uma possível explicação para esse fato é que a lesão do núcleo arqueado provocado pelo MSG gera um quadro de hipossomatotropismo, tido como alentecimento da produção do hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH)² secretado pelos neurônios desse núcleo. Por consequência, haverá também o alentecimento da produção/secreção do GH e do fator de crescimento I semelhante à insulina (IGF-I)²⁶.

² GHRH, growth hormone-releasing-hormone.

Dessa forma, em relação aos resultados do presente estudo, ratos com níveis insuficientes de GH poderiam explicar nossos resultados, como por exemplo, um menor crescimento somático e o aumento da adiposidade. O tratamento com MSG gera uma síndrome constituída por perda neuronal, distúrbios endócrino-metabólicos e alterações comportamentais, o que acarreta o atraso do crescimento esquelético e indução de um quadro de obesidade^{46,47}. Estudos realizados com ratos *knockout*, para o gene produtor do GH, corroboram os dados obtidos no presente estudo, visto que o acúmulo de gordura ocorre de maneira mais acentuada nos ratos obesidade-induzidos mesmo com quadros de hipofagia e redução do PC dos animais^{29, 46,47}.

Em relação ao GH, sua ação lipolítica é conhecida desde 1930, quando foi observada a redução de gordura em ratos. Em estudos posteriores, foi constatada a ação de oposição do GH à atividade de insulina no adipócito⁴⁸, ou seja, diminuindo os estoques de triacilgliceróis no interior do adipócito devido a ativação da lipase hormônio sensível (HSL).

Estudos realizados em seres humanos detectaram a associação negativa exercida pelos baixos níveis séricos de GH com a formação da massa de tecido adiposo e, dessa forma, alterando, de maneira geral, a composição corporal do indivíduo. Para elucidar a afirmação anterior, foi feita a introdução de doses de GH recombinante humano (rhGH) em adultos e crianças portadores de deficiência desse hormônio, cujos resultados mostraram uma redução da massa gordurosa de modo dose-dependente.

A interrupção do tratamento, por sua vez, fez com que os participantes do estudo retornassem ao padrão de acúmulo de gordura inicial²⁹. Observou-se ainda que a deficiência de GH aumenta o risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares e de diabetes mellitus insulino-independente⁴⁸. Achados em publicações científicas recentes indicam que existe ação direta do cortisol e do GH no tecido adiposo, uma vez que se sabe da expressão de receptores, para esses hormônios, no TAB humano, promovendo, assim, os seus efeitos fisiológicos. O cortisol atua direta e indiretamente no aumento da massa de tecido adiposo no indivíduo promovendo a redistribuição da gordura nos sítios periféricos^{48,49}. Já o GH aumenta a lipólise, via HSL, que promove a oxidação de Triacil-glicerol (TAG) em

ácidos graxos livres e glicerol nos adipócitos^{48,50}. Além disso, cortisol e GH parecem apresentar atividade de sinergismo na ação lipolítica em humanos⁴⁸.

6.2 TECIDO ADIPOSEO BRANCO

Outro aspecto avaliado neste estudo foi a distribuição da gordura em relação à sua localização e estado funcional. Inicialmente, as gorduras foram classificadas apenas quanto à topografia e foram denominadas viscerais, quais sejam: omental (OM), perirrenal (PR) e epididimal/parametrial (EP/PM) e extra viscerais: parietal (PT) e retro-peritoneal (RP). Outra classificação feita em nosso estudo foi em relação à sua distribuição topográfico-funcional, ou seja, intra e extra abdominais, sendo as intra-abdominais OM, PR, EP/PM e RP e as extra-abdominais somente PT.

Quando comparadas com os machos MSG, as fêmeas apresentaram uma maior concentração de TAB visceral (TABV) a partir da 8ª semana e intra-abdominal a partir da 9ª semana de vida. Independente do sexo, observamos que os grupos MSG apresentaram um aumento importante do TABV e intra-abdominal quando comparado com os respectivos grupos controle.

Uma possível explicação para esse fato é que na obesidade há um decréscimo dos níveis circulante de GH, apresentando, pois, uma relação inversa entre a frequência de pulsos de GH e o IMC do indivíduo^{51,52}. A ação do GH no tecido adiposo em sinergismo com os hormônios esteróides previne o acúmulo de gordura e estimula a mobilização lipídica⁵¹. Pode-se esperar um efeito mais pronunciado do GH na gordura visceral, uma vez que suas ações são dependentes dos hormônios esteroides e é nesse sítio onde há maior densidade de receptores para estrogênio e androgênio^{51,52}. Estudos demonstraram que a secreção de GH e de IGF-1 em 24 horas, correlacionaram-se inversamente com a deposição de gordura visceral tanto em magros quanto em obesos^{51,52,53}.

O IGF-1 atua como potente indutor da proliferação e diferenciação do tecido adiposo, desempenhando um importante papel na regulação do acúmulo de gordura. Tem sido descrito na literatura (refs), que os ratos submetidos ao modelo

de obesidade, desse presente estudo, apresentam níveis circulantes de GH reduzidos, em virtude da lesão do núcleo arqueado. Isso explicaria o porquê da redistribuição predominante da gordura para os sítios viscerais.

Alguns indivíduos obesos desenvolvem uma aparência similar àquela observada na doença de Cushing, que é caracterizada pela hiperprodução de glicocorticóides (cortisol) pela glândula supra-renal, com uma distribuição gordurosa típica e com preponderância central⁵¹.

Nessa doença, a secreção de cortisol encontra-se aumentada em virtude da hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, o que atuaria como um fator patogênico importante para a determinação da obesidade visceral. Somados ao estado de hipercortisolismo, na obesidade, há ainda, hiperinsulinemia, aumento da resistência à insulina e diminuição dos níveis de GH, que por sua vez, gera um padrão de distribuição de gordura andróide. Ou seja, com maior deposição visceral, o que poderia explicar os resultados obtidos no presente estudo.

Outra possível explicação para o acúmulo de gordura abdominal e visceral no sexo feminino está associada aos estados hiperandrogênicos⁵⁴. Já no gênero masculino a produção testicular de androgênios está reduzida, o que gera uma relação de oposição aos efeitos promovidos no sexo oposto^{54,55}. Os adipócitos apresentam receptores específicos aos hormônios androgênicos, com uma maior concentração nas células da gordura visceral que nos adipócitos subcutâneo⁵¹. Além disso, estudos observaram que em seres humanos obesos do sexo feminino, a testosterona livre, sua forma bioativa, tem seus níveis séricos aumentados. Diferentemente de outros hormônios, a testosterona (T) induz a um aumento na densidade de receptores para androgênio nas células adiposas após a sua exposição a esse hormônio⁵¹.

No sexo masculino, quando moderadamente obesos, a T total está reduzida, porém a T livre está normal⁵⁵, como consequência da diminuição da capacidade de ligação da globulina ligante de hormônios sexuais (SHBG)^{3,55}. Nos obesos mórbidos do sexo masculino, entretanto, ambas as Ts estão reduzidas, assim como os níveis do

³ SHBG, sex hormone-binding globulin.

hormônio folículo estimulante (FSH)⁴ e do hormônio luteinizante (LH)⁵, o que indicaria um estado de hipogonadismo⁵¹. Essas alterações hormonais discutidas justificariam a razão pela qual os machos obesos, no presente estudo, apresentam menor gordura visceral e intra-abdominal que as fêmeas obesas. De acordo com a literatura científica, o surgimento do acúmulo de gordura visceral, no sexo masculino, está negativamente correlacionado aos níveis séricos totais de testosterona livre e de SHBG⁵¹.

A correlação entre os níveis de androgênio e o volume de tecido adiposo visceral mensurado por ressonância magnética nuclear (RMN) foi estudada anteriormente⁵¹. Os autores observaram um aumento dos níveis de T livre, acompanhado pelo declínio de SHBG e manutenção dos valores de T total. Elbers *et al* (1997) sugeriram que o sexo feminino quando exposto a um estado hiperandrogênico, como observado na obesidade, passa a apresentar um padrão de acúmulo visceral de gordura⁵⁶.

O estrogênio promove *down regulation* na densidade de receptores de T no sexo feminino, o que poderia sugerir um comportamento protetor aos altos de androgênio^{51,52}. Quando o nível circulante de estrogênio torna-se suficientemente baixo, pode ser observado um acúmulo de gordura nos sítios viscerais, sugerindo que as variações no níveis circulantes desse hormônio seja mais importante para o surgimento da obesidade visceral no sexo feminino que os estados hiperandrogênicos. Dessa forma, pode se concluir que o estado hiperandrogênico, os baixos níveis circulantes de GH e o aumento da secreção de cortisol atuam, em conjunto, no processo de deposição e centralização da gordura corporal, presente na obesidade visceral do sexo feminino⁵¹.

Poderíamos considerar a hipótese de que as fêmeas no modelo MSG alcançariam a maturidade sexual antes das ratas do grupo controle⁵⁷. A diferença da maturidade sexual fica mais evidente quando comparamos essas fêmeas MSG com os machos expostos ao mesmo modelo de obesidade, tendo em vista que estes apresentam um padrão hormonal hipoandrogênico.

⁴ FSH, follicle stimulating-hormone

⁵ LH, luteinizing-hormone.

Por outro lado, estudos anteriores mostraram que nos seres humanos e em ratas os níveis circulantes de leptina são sempre maiores que nos machos³². Os seus níveis circulantes permanecem elevados no sexo feminino, mesmo que haja a correção do teor de gordura corporal. Isso, por sua vez, sugere a existência de uma possível interação entre o tecido adiposo branco e o sistema reprodutor, modulada de formas diferentes, quando estimuladas por hormônios androgênicos ou estrogênicos. Na obesidade, a atividade secretora androgênica da glândula adrenal e ovariana encontram-se hiperfuncionantes, demonstrando uma relação positiva com o valor do IMC do indivíduo. Vale ressaltar que a dehidroepiandrosterona (DHEA) e sua forma sulfatada (S-DHEA) atuam como poderosos inibidores da secreção de leptina, enquanto a presença do estradiol promove a estimulação de sua liberação no tecido adiposo. A T é desprovida de atividade no tecido adiposo de ambos os sexos⁵⁸.

É válido lembrar que o acúmulo de gordura no sítio visceral está relacionado com as inúmeras anormalidades metabólicas já citadas, gerando, por exemplo, um aumento do risco cardiovascular. O padrão de distribuição de gordura encontrado nas fêmeas MSG intriga os pesquisadores, visto que sendo ele pior do que nos machos, cria-se divergência com a literatura, que afirma que o sexo feminino possui menor risco de doenças e ou mortes por causas cardiovasculares⁵⁹. Quando observado em humanos, a quantidade de gordura visceral no homem corresponde cerca de 21% do total da gordura corporal, enquanto nas mulheres apenas 8%. Inclusive, a elevação desses valores no sexo feminino, só será notado a partir de um acúmulo superior a 30 litros do volume total de gordura obtida. Acima desse valor, o padrão de acúmulo se iguala entre os sexos¹⁴.

No que diz respeito ao TAB extra-abdominal, os gêneros se comportam de forma semelhante, tanto no grupo controle quanto no grupo MSG. Diferenças estatísticas foram observadas pontualmente. Contudo, quando observado o padrão entre grupos de tratamento, viu-se que o grupo MSG acumula significativamente mais gordura extra-abdominal que o grupo controle. Esse padrão de estoque é visualizado desde a 5ª semana de vida, quando comparado com o TAB intra-abdominal, que aumenta com significância estatística a partir da 9ª semana, ocorrendo de maneira mais

precoce. Dessa forma, lança-se a hipótese de que as gorduras PT e RP estariam executando um papel protetor, visto que retarda o acúmulo de tecido adiposo no sítio intra-abdominal, prevenindo, pois, o aparecimento precoce de anormalidades metabólicas. O tecido adiposo subcutâneo está diretamente relacionado com o aumento da sensibilidade à insulina e uma redução da incidência de desordens associadas à obesidade⁶⁰.

O tecido extra-visceral se comporta de maneira semelhante ao TAB extra-abdominal, sendo a diferença entre eles apenas no que se refere ao início do acúmulo de gordura, que se dá significativamente na 6ª semana para o tecido extra-visceral, enquanto o extra-abdominal na 5ª semana de vida. O TAB RP, apesar de ser um tecido adiposo anatomicamente classificado como intra-abdominal, um padrão de comportamento semelhante ao TAB PT, que é extra-abdominal. Ou seja, o estoque de gordura no sítio RP ocorre mais precocemente que as demais gorduras intra-abdominais. Em suma, os valores de TAB RP quando somado ao TAB PT nos gráficos de TAB extra-visceral ocasionou um atraso temporal no acúmulo de gorduras, retardando a significância estatística em uma semana. Isso leva a crer que o tecido RP é um sítio intermediário de estoque, o que se compreende que poderia ser a progressão natural da mobilidade de gordura.

6.3 ÍNDICE DE LEE:

O índice de Lee nos ratos é considerado na literatura como um equivalente ao IMC dos humanos⁶¹. Entretanto, os valores desse índice obtidos no presente estudo mostraram apenas diferenças estatísticas pontuais quando analisadas entre os gêneros e não segue um padrão homogêneo quando comparados os tratamentos. Portanto, consideramos que não é um bom parâmetro preditor confiável de obesidade nos ratos²⁴, fazendo-se, pois, necessário a criação de um novo índice que possa contemplar todas as nuances da obesidade.

7 CONCLUSÕES

O tecido adiposo é fundamental para a sobrevivência do ser humano, protegendo o corpo de traumas, participando da estabilidade térmica em situações climáticas adversas e produzindo adipocitocinas. Observou-se que a lesão hipotalâmica em ratos produzida pelo MSG se mostrou ser um bom modelo para se analisar o remodelamento adiposo, proporcionando, pois, uma distribuição distinta dos TABs quando comparado entre machos e fêmeas.

Em relação ao TAB visceral foi visto que os animais do sexo feminino apresentaram valores significativamente maiores que os machos tanto no grupo controle quanto no glutamato. O mesmo não foi observado para o TAB extra-visceral, no qual as fêmeas do grupo controle apresentaram acúmulos significativos de gorduras pontuais e não apresentaram resultado com significância estatística no grupo MSG. Para o TAB intra-abdominal e extra-abdominal as significâncias estatísticas obtidas foram pontuais.

Concluiu-se, ainda, que o índice de Lee parece não ser o preditor mais adequado para avaliar o grau de obesidade em ratos nesse estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- OMS - Organização Mundial de Saúde. 2012. Disponível em <<http://www.who.int/en/>> Acesso em 12 de agost., 2012.
- 2 - Sobrepeso e Obesidade: Diagnóstico. Projeto Diretrizes. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. 24 de agosto de 2004.
- 3 - IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. 2012. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoadevida/pof/2008_2009_encaa/defaulttabzip_prev.shtm> Acesso em 12 de julh., 2012.
- 4- Prevalence of Overweight and Obesity Among US Children, Adolescents, and Adults, **J Clin Endocrinol Metab.** nov., 1998, v.83, n.11, p. 3925-9.
- 5- Leptin as a Therapeutic Agent—Trials and Tribulations. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v.44, n.1 São Paulo Feb. 2000.
- 6- KAPLAN, N. M. The Deadly Quartet. Upper-Body Obesity, Glucose Intolerance, Hypertriglyceridemia, and Hypertension. **Arch. Intern. Med.**, v. 149, 1989.
- 7- The effect of fat removal on glucose tolerance is depot specific in male and female mice – American Physiological Society. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v.44, n.1 São Paulo Feb. 2010.
- 8- FONSECA, E.A.I. **Influencia da obesidade e da resistência à insulina sobre o desenvolvimento tumoral**: efeito da metformina. Dissertação (Mestrado em Medicina) Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2010, 156f.
- 9- QATANANI, M; LAZAR, M. A. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. **Genes Dev.**, v. 21, n. 12, p. 1443-1455, 2007.
- 10- GREENFIELD, J; CAMPBELL, L. Insulin resistance and obesity. **Clin Dermatology**, v. 22, n. 4, 2004, p.289-295.
- 11- Experimental model to induce obesity in rats1. **Acta Cirúrgica Brasileira.** V.21, n.6, 2006, p.421-425.
- 12- Regulation by glucocorticoids of angiotensinogen gene expression and secretion in adipose cells, **Biochem. J.** 1997, v.1, n.1, p.701-706.
- 13- KARLSSON, C. et al. Human Adipose Tissue Expresses Angiotensinogen and Enzymes Required for Its Conversion to Angiotensin II. **J Clin Endocrinol Metab.** nov., 1998, v.83, n.11, p. 3925-9.
- 14- JONES, B. H. et al. Angiotensin II Increases Lipogenesis in 3T3-L1 and Human Adipose Cells. **J Endocrinology.** 1997 Apr; v.138, n.4, p.1512-9.

- 15- GUERRE-MILLO, M. Adipose tissue and adipokines: for better or worse. **Diabetes Metab.** 2004 Feb; v.30, n.1, p.13-9.
- 16 - FONSECA-ALANIZ, M. H et al. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.12, n.1 São Paulo Aug. 2008.
- 17- Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *Clin Invest* 1995;95:2111-29
- 18 - WANG, H.; ECKEL, R. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 2009 Aug; 297(2):E271-88. Epub 2009 Mar 24.
- 19 - ZECHNER, R. et al. The role of lipoprotein lipase in adipose tissue development and metabolism. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 2000, Nov;24 Suppl 4, p.S53-6.
- 20 - HIRATA, A.E.; ANDRADE, P.; DOLNIKOFF, V. Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. **Braz J Med Biol Res**, v.30, n.5 Ribeirão Preto May 1997.
- 21 - RODRIGUES, A.M.; SUPLICY, R. Controle Neuroendócrino do Peso Corporal: Implicações na Gênese da Obesidade. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.47, n.4 São Paulo Aug. 2009.
- 22- VALASSI, E. M; CAVAGNINI, F.. Neuroendocrine control of food intake. **Nutr Metab Cardiovasc Dis.** 2008 Feb;18(2):158-68. Epub 2007 Dec 3.
- 23 - PRITCHARD, E.D.; TURNBULL, A.V.; WHITE, A. Pro-opiomelanocortin processing in the hypothalamus: impact on melanocortin signalling and obesity. **J Endocrinol.** 2002 Mar;172(3):411-21.
- 24- STEPHENS, D.N. Does the Lee obesity index measure general obesity? **Physiol Behav** 1980;25(2):313-5.
- 25- TONY, K.T. et al.. Hypothalamic sensing of fatty acids. **Nature Neuroscience**, 2005, v.1.n.1, p.579-584.
- 26 - SOUZA, F. et al. Efeito da vagotomia troncular em ratos injetados na fase neonatal com glutamato monossódico: estudo biométrico. **Acta Cir. Bras.** v.16, n.1 São Paulo Jan./Feb./Mar. 2001.
- 27- CONSIDINE, R.V. et al Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **N Engl J Med**, 1996, v.1, n.1, p.334-292-5.
- 28- VGONTZAS, A. et al. Elevation of Plasma Cytokines in Disorders of Excessive Daytime Sleepiness: Role of Sleep Disturbance and Obesity. **J Clin Endocrinol Metab.** nov., 2001, v.21, n.11, p. 3925-9.

- 29- BERRYMAN, M.B et al.. Growth hormone and adipose tissue: Beyond the adipocyte. **J Endocrinology**. 2002, fev, v. 13, n.1, p.115-26.
- 30 - GUNTER, P. et al. Interleukin-6 and the Interleukin-6 Receptor in the Human Adrenal Gland: Expression and Effects on Steroidogenesis. **J Clin Endocrinol Metab**. 1997 Jul;82(7):2343-9.
- 31- SUSAN K. et al. Omental and Subcutaneous Adipose Tissues of Obese Subjects Release Interleukin-6: Depot Difference and Regulation by Glucocorticoid. **J Clin Endocrinol Metab**. 1998 Mar;83(3):847-50.
- 32- MAYES, J.S.; WATSON, G.H. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. **Obes Rev**. 2004 Nov;5(4):197-216.
- 33- Cleland WH, Mendelson CR, Simpson ER. Effects of aging and obesity on aromatase activity of human adipose cells. **J Clin Endocrinol Metab** 1985;38:476-9.
- 34- Siiteri PK. Adipose tissue as a source of hormones. **Am J Clin Nutr** 1987;47:277-82.
- 35- JANKE, J. et al. Retinol-binding protein 4 in human obesity Engeli. **J Diabetes** 2006 55 2805-2810.
- 36- GRAHAM, T.E, et al Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. **The New England Journal of Medicine** 2006 354 2552-2563.
- 37- Lee JW, Lee HR, Shim JY, Im JA & Lee DC. Abdominal visceral fat reduction is associated with favorable changes of serum retinol binding protein-4 in nondiabetic subjects. **Endocrine Journal**, 2008 55 811-818.
- 38 - Tsutsumi C, Okuno M, Tannous L, Piantedosi R, Allan M, Goodman DS, et al. Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. **J Biol Chem** 1992;267:1805-10.
- 39 - OKNO, M.; CARAVEO, V.E.; GOODMAN, D.S.; BLANNER, W.S. Regulation of adipocyte gene expression by retinoic acid and hormones: effects on the gene encoding cellular retinol-binding protein **J Lipid Res**, 1995;36:137-47.
- 40 - WEI S. et al. etinyl ester hydrolisys and retinol efflux from BFC- 1 beta adipocytes. **J Biol Chem** 1997;272:14159-65.
- 41- Haider DG, Schindler K, Prager G, Bohdjalian A, Luger A, Wolzt M & Ludvik B. Serum retinol-binding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 2007 92 1168-1171.
- 42- Vitkova M, Klimcakova E, Kovacikova M, Valle C, Moro C, Polak J, Hanacek J, Capel F, Viguerie N, Richterova B, Bajzova M, Hejnova J, Stich V & Langin D.

Plasma levels and adipose tissue messenger ribonucleic acid expression of retinol-binding protein 4 are reduced during calorie restriction in obese subjects but are not related to diet-induced changes in insulin sensitivity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 2007 92 2330-2335.

43- Experimental model to induce obesity in rats1 **Acta Cirúrgica Brasileira** - Vol 21 (6) 2006, p.425.

44- CESARRETI, M.L. et al. Modelos Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições Aprendidas. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.21, n.2, São Paulo Feb. 2008.

45- YONG, W.K. et al. Surgical removal of visceral fat decreases plasma free fatty acid and increases insulin sensitivity on liver and peripheral tissue in monosodium glutamate (MSG)-obese rats. **Journal Korean Medical Science**. 1999 Oct;14(5):539-545.

46- BRANDÓLIS. R. A. M. Modulação autonômica cardiovascular no modelo experimental de obesidade induzida por glutamato monossódico em ratos. **Nature Neuroscience**, 2007, v.1.n.1, p.125.

47- VOLTERA, A.F.. et al. Efeito da Indução de Obesidade Neuroendócrina sobre a Hemodinâmica Sistêmica e a Função Ventricular Esquerda de Ratos Normotensos. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.44, n.1 São Paulo Feb. 2000.

48- MALIN, O et al. Effects of Cortisol and Growth Hormone on Lipolysis in Human Adipose Tissue. **The New England Journal of Medicine** 2006 354 2552-2563.

49- ESPÍNDOLA-ANTUNES,D.; KATER, C. Adipose Tissue Expression of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 in Cushing's Syndrome and in Obesity. **Biol Chem** 1992;267:1845-05.

50- VINICIUS, F.C. et al. Hormônio do crescimento e exercício físico: considerações atuais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, out./dez., 2008.

51- BERNARDO, L.W. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation the Metabolic Syndrome. **J Biol Chem** 1992;267:1805-10.

52- WAJCHENBERG , B.L. et al. Tecido Adiposo como Glândula Endócrina. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.44 no.1 São Paulo Feb. 2000.

53- WABITSCH, M. et al. The role of growth hormone insulin-like growth factors in adipocyte differentiation The role of growth hormone/insulin-like growth factors in adipocyte differentiation. **J Metabolism**, v. 44 [Suppl 4]:45-49, 2005.

54 - SUPLICY, H.L. **Obesidade visceral, resistência à insulina e hipertensão arterial**. 2001. Disponível em <<http://departamentos.cardiol.br/dha/revista/7-2/007.pdf>>. Acesso em 12 de julh., 2012.

- 55- LORDELO, R.A. et al. Eixos Hormonais na Obesidade: Causa ou Efeito? **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.51, n.1, São Paulo Feb. 2007.
- 56 - JOLANDA, M. H. et al.. Long-Term Testosterone Administration Increases Visceral Fat in Female to Male Transsexuals. **J Clin Endocrinol Metab**. 1997. Jul;82(7):2044-7.
- 57 - AMÉLIO F.; et al. Aspectos neuroendócrinos da síndrome metabólica Neuroendocrinology of the metabolic syndrome. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.47, n.4 São Paulo Aug. 2003.
- 58- CASABIELL, V.; et al. **Reproduction and Sex Steroids Leptin , Reprod Xesús 1Department of Physiology, and 2Endocrine Section**, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Department of Medicine, University of Santiago de Compostela, Spain, 2010.
- 59- ALDRIGHI, J. M.; RIBEIRO, A. L. Terapia com estrogênio após a menopausa reduz o risco de calcificação na artéria coronária - **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.53, n.4, São Paulo July/Aug. 2007, p.1-17.
- 60 - DEL POZO, C. H et al.. Expression Profile in Omental and Subcutaneous Adipose Tissue from Lean and Obese Subjects. Repression of Lipolytic and Lipogenic Genes - **Obes Surg**, v.1, n.1, 2011, p.633-643.
- 61 - GILIO, G. et al.. **Influência da dieta de cafeteria e exercício físico em parâmetros corporais de ratos wistar**. 2010. Disponível em <www.def.uem.br/cipe2011/geraTrabalho.php?id=141 >. Acesso em 12 de agost., 2012.