

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE NUTRIÇÃO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UMA DIETA EXPERIMENTAL
NA DISTRIBUIÇÃO E ASPECTO DE GORDURA VISCERAL
EM RATOS *WISTAR***

LUIZA GABRIELLA SOARES DANTAS PINHEIRO

NATAL - RN

2018

LUIZA GABRIELLA SOARES DANTAS PINHEIRO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UMA DIETA EXPERIMENTAL
NA DISTRIBUIÇÃO E ASPECTO DE GORDURA VISCERAL
EM RATOS *WISTAR***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de graduação em
Nutrição da Universidade Federal do Rio
Grande do Norte como requisito final para
obtenção do grau de Nutricionista.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Heloneida de Araújo Moraes

Co-Orientadora: Nutricionista Anna Beatriz Santana Luz

NATAL - RN

2018

LUIZA GABRIELLA SOARES DANTAS PINHEIRO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UMA DIETA EXPERIMENTAL
NA DISTRIBUIÇÃO E ASPECTO DE GORDURA VISCERAL
EM RATOS *WISTAR***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Nutrição da
Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito final para obtenção do grau de
Nutricionista.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Ana Heloneida de Araújo Morais

Nutricionista Anna Beatriz Luz

Prof. Dra. Sancha Helena de Lima Vale

Natal, 17 de abril de 2018.

À Fázya e Ozair que tanto apoiaram o meu crescimento profissional, pelo amor, carinho, confiança e incentivo de sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por guiar todos os meus passos, iluminar minhas decisões, tanto no âmbito acadêmico como no pessoal e olhar nos momentos que mais precisei.

Aos meus pais, Fázya Gracielly e Ozair Pinheiro, por todos os ensinamentos, pelas oportunidades oferecidas, mesmo nas dificuldades, pelas lições e broncas quando necessária, pelo carinho e amor. Vocês são meus exemplos de vida e tenho orgulho de ser filha dos seres humanos que são.

Agradeço também aos meus irmãos, Ozair Felipe e Cláudia Helena, que caminham juntos nessa jornada e estão ao meu lado, compreendendo as chatices e reclusão para estudo. Amo vocês!

Não poderia deixar de agradecer a minha avó, Fátima Soares, um exemplo de mulher, guerreira e admirada por todos os familiares. Boa parte da minha educação foi feita por você, que me ajudou no ensino fundamental e médio e com as lições ou estudos para provas. Eu te amo e sempre te amarei.

Ao meu namorado, Eduardo Marques, que me acompanhou desde que entrei na universidade, me apoiando nessa fase da minha vida e entendendo os momentos de comemoração que não pude participar, bem como sentando à mesa comigo para estudar e auxiliar em meu TCC. Obrigada por tudo meu anjo, te amo!

À Universidade Federal do Rio Grande do Norte, aos professores do curso de Nutrição, que além de professores são amigos, e puderam compartilhar seus ensinamentos, bem como momentos felizes e tristes. Agradeço também à professora Sancha pela ajuda e pelas tantas contribuições importantes para este trabalho. Aos amigos de graduação, obrigada pela paciência, pelos momentos de estudos e até as loucuras de trabalho, vocês são demais.

Ao meu grupo de pesquisa, os NutriSBioativoS, que me acolheram com atenção e interesse de ensinar, Fabi, Amanda, Lídia, Izael, Vanessa, Luana, Rafael, Bianca, Gerciane, Ana Júlia, Tati e Ana Francisca, vocês são demais. Em especial a minha co-orientadora e amiga, Bia, você faz parte deste trabalho, obrigada por tudo.

Por fim, agradeço à professora Ana Heloneida, que me aceitou na pesquisa e por que também não dizer em sua vida, com tantas correções, seja do TCC ou de outros trabalhos. Você é uma inspiração que quero seguir, um exemplo de professora/orientadora. Obrigada por tudo.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

PINHEIRO, Luiza Gabriella Soares Dantas. **Avaliação do efeito de uma dieta experimental na distribuição e aspecto de gordura visceral em ratos *Wistar***. 2018. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação de Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

RESUMO

A atual transição nutricional decorre do aumento do consumo de alimentos altamente energéticos, ricos em sódio e gordura, e pobres em fibras. Tais alimentos compõem as dietas ocidentais e o seu alto consumo tem gerado o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como a obesidade, que é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal decorrente da hipertrofia das células adiposas, sendo considerada uma pandemia mundial que necessita de diversos estudos. Devido às limitações de estudar essa morbidade em humanos, a indução de obesidade em modelos experimentais por meio de dietas semelhantes às consumidas pela população humana se faz necessária. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo analisar o efeito da dieta experimental de alto índice glicêmico e carga glicêmica sobre a estrutura do tecido adiposo e sobre a adiposidade visceral de ratos *Wistar*. Para tanto, utilizou-se dois grupos (n=5) de ratos *Wistar*, adultos, machos. Um grupo recebeu a dieta padrão Labina® e o outro a dieta experimental de alto índice glicêmico e alta carga glicêmica (HGLI), por 17 semanas. Após esse período, foi coletado o tecido adiposo visceral retroperitoneal, epididimal e perirenal para avaliação estereológica e mensuração da adiposidade. Os ratos alimentados com a dieta experimental apresentaram densidade de volume de adipócitos igual a 97,0%, área seccional média equivalente a 1387 μm^2 e volume total de adipócitos de 6,97 cm^3 , considerados significativamente maiores do que os valores observados para os animais que consumiram a dieta padrão. Além disso, o índice de adiposidade visceral ($p = 0,002$), o peso de cada tecido adiposo ($p = 0,008$) e o peso corporal final ($p = 0,035$) foram maiores nos animais alimentados com a dieta HGLI. Diante dos resultados obtidos é possível concluir que a dieta experimental foi capaz de provocar aumento do tecido adiposo visceral, indicando que a dieta representa um modelo de indução da obesidade, podendo contribuir para novos estudos da fisiopatologia desta morbidade em ratos *Wistar*, adultos e machos.

Palavras-chave: Adipócitos; adiposidade; carga glicêmica; índice glicêmico; histologia;

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1. OBJETIVO GERAL.....	11
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3. REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1. DIETAS EXPERIMENTAIS NA INDUÇÃO DA OBESIDADE	12
3.1.1. Carboidratos e glicemia	13
3.1.1.1. Recomendação de consumo dos carboidratos	15
3.1.2. Impacto à saúde	15
3.2. OBESIDADE.....	16
3.2.1. Definição, diagnóstico, tratamentos	16
3.2.2. Desordens metabólicas associadas à obesidade	17
3.3. GORDURA CORPORAL	18
3.3.1. Tecido adiposo branco	19
3.3.1.1. Tecido adiposo branco visceral.....	21
3.3.2.1. Tecido adiposo branco subcutâneo.....	21
3.4. ESTEREOLOGIA	22
3.5. ÍNDICE DE ADIPOSIDADE	23
4. METODOLOGIA	25
4.1. ANIMAIS	25
4.2. DESENHO EXPERIMENTAL.....	25
4.3. MÉTODOS	25
4.3.1. Obtenção da dieta experimental	25
4.3.2. Coleta do tecido adiposo	26
4.3.3. Confecção das lâminas histológicas e análise microscópica do tecido adiposo visceral	26
4.3.4. Esterologia	27
4.3.5. Índice de adiposidade visceral	28
4.3.6. Análise estatística	29
5. RESULTADOS	30

5.1. ANÁLISE ESTEREOLÓGICA DO TECIDO ADIPOSEO DE RATOS APÓS A INGESTÃO DA DIETA EXPERIMENTAL (HGLI).....	30
5.2. ADIPOSIDADE VISCERAL DE RATOS ALIMENTADOS COM A DIETA EXPERIMENTAL (HGLI)	31
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

O aumento da produção e consumo de alimentos processados, como refrigerantes, doces e carnes, é uma das principais causas da atual pandemia de obesidade e de doenças e agravos não transmissíveis no mundo, ao passo que se tem diminuído a ingestão de alimentos fonte de fibras, vitaminas e minerais (MARTINS et al, 2013). Adicionalmente, o ambiente moderno é um potente estímulo para diminuição das concentrações de atividade física, o aumento da ingestão energética e consequentemente desenvolvimento da obesidade (HILL et al., 2012).

O mais recente levantamento realizado pelo Ministério da Saúde (2016) aponta que o excesso de peso e a obesidade continuam aumentando nos últimos anos no Brasil. De acordo com o estudo, a proporção de pessoas acima do peso no Brasil avançou de 42,6%, em 2006, para 53,8%, em 2016, sendo esse aumento mais prevalente em homens. No mesmo período, o percentual de indivíduos com obesidade subiu de 11,4% para 18,9%, encontrando – se maior entre os que têm menor escolaridade. Sendo assim, a obesidade como uma doença pandêmica necessita de atenção e estudos para que se entenda ainda melhor sua fisiologia e consequentemente, se pesquisem tratamentos mais eficientes e efetivos (BRASIL, 2016).

Devido às limitações éticas de estudar efeitos dessa morbidade em humanos, estudos têm sido realizados com o objetivo de induzir obesidade em modelos experimentais por meio de dietas semelhantes às dietas consumidas pela população humana. Sendo, portanto, necessários modelos dietéticos simples, de baixo custo e eficientes em reproduzir as consequências dos hábitos alimentares, que apresentem dados de composição nutricional.

Nesse contexto, a linhagem *Wistar* por ser um grupo heterogêneo, não consanguíneo, representa fator importante para similaridade com os humanos, e aproximadamente 80% de seu DNA é idêntico ao do homem, fator importante para os resultados científicos. Os estágios de maturação dos sistemas fisiológicos de ratos ocorrem de forma similar em humanos (MATTARAIA e MOURA, 2012; SANTOS et al., 2012).

Deste modo, uma forma de analisar a obesidade é pelo índice de adiposidade. Segundo Leopoldo et al. (2016) evidenciam que o índice de adiposidade é uma excelente medida sobre a composição corporal, uma vez que a gordura aumenta gradualmente com a obesidade, principalmente a gordura visceral, contribuindo para o desenvolvimento de algumas desordens metabólicas. Além disso, tanto em humanos como em ratos, esse tecido secreta maiores concentrações de adipocinas ligada ao processo inflamatório, podendo acarretar em resistência à insulina (HERMSDORFF et al., 2004).

O nosso grupo de pesquisa Nutrição e Substâncias Bioativas para Saúde (NutriSBioativoS) desenvolveu uma dieta experimental sólida para ratos *Wistar*, com alto índice glicêmico e alta carga glicêmica, características que são semelhantes às dietas da sociedade atual. Em estudos realizados por J. P. S. O. Santos (2016), J. H. Santos (2016), Silva (2016) e Oliveira (2017) avaliando essa dieta experimental com alto teor de carboidrato sobre diversos agravos à saúde, foram observados aumento na glicemia de jejum, nas concentrações de triglicérides e VLDL-c, no perímetro da cintura e no ganho de peso dos animais avaliados. Esses resultados foram reunidos e submetidos para publicação por Carvalho et al., (2018). No entanto, estudos/pesquisas relacionados ao seu efeito sobre a quantificação morfológica e estereológica do tecido adiposo e composição corporal, refletido pelo índice de adiposidade em ratos *Wistar*, ainda não foram realizados.

Sendo assim, o presente estudo pretende analisar os efeitos da dieta experimental desenvolvida pelo NutriSBioativoS, citada anteriormente, em ratos *Wistar*, verificando suas consequências sobre o tecido adiposo.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito da dieta experimental de alto índice glicêmico e alta carga glicêmica sobre a estrutura do tecido adiposo e sobre a adiposidade visceral de ratos *Wistar*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obter a dieta de alto índice glicêmico e carga glicêmica;

Realizar análise estereologia do tecido adiposo visceral dos ratos *Wistar*;

Mensurar o peso do tecido adiposo visceral nos diferentes compartimentos e o peso corporal final dos ratos *Wistar*;

Mensurar a adiposidade visceral desses animais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. DIETAS EXPERIMENTAIS NA INDUÇÃO DA OBESIDADE

A sociedade vem passando por uma transição nutricional caracterizada pelo consumo de uma dieta de alta densidade energética, com alimentos ultraprocessados, rica em açúcares e gorduras, extremamente energética, menor ingestão de alimentos ricos em fibras, vitaminas e minerais, e insatisfatória quanto ao aporte nutricional. Atrelado a esse fato, sabe-se do surgimento e/ou agravamento de doenças como a obesidade, a desnutrição, as dislipidemias, hipertensão, diabetes, dentre outras, além da diminuição da qualidade de vida da população (HILL, 2012; FRANÇA et al, 2012; LOUZADA et al, 2015).

Os produtos prontos para consumo, além de possuírem um valor nutricional desfavorável, possuem características que facilitam o hábito de comer entre as refeições e que propiciam o consumo exacerbado de energia. Devido às características sensoriais desses produtos e estratégias de *marketing*, houve uma contribuição acelerada para o crescimento do consumo desses produtos no Brasil. Sua praticidade e o fato de precisarem de nenhuma ou quase nenhuma preparação culinária tornam esses produtos atrativos para a população cuja falta de tempo é um fator predominante no estilo de vida (MARTINS et al., 2013).

Entretanto, pela relação direta entre o consumo desse tipo de dieta e o surgimento de doenças, especialmente a obesidade, tem havido um crescente interesse dos pesquisadores para melhor compreender essas relações e assim propor formas de prevenir e combater tais agravos (GOULARTE, 2011). Dessa forma, o uso de modelos de dietas que induzam à obesidade vem sendo aplicadas em várias pesquisas e, dentre essas, estão as Dietas Ricas em Gordura (DHL) e as dietas de cafeteria (CAF) (BORTOLIN et al., 2017).

As dietas de cafeteria são compostas por alimentos densos em energia, altamente palatáveis como chocolate, leite condensado, bolo, com altas quantidades de carboidratos simples, com elevado teor de sal e gordura, principalmente saturadas e/ou trans, sendo, portanto, mais utilizada, por induzirem a obesidade e os distúrbios relacionados com mais eficiência quando comparadas às DHL (BAYOL et al, 2010; ELAHI et al, 2009; BORTOLIN et al., 2017).

A utilização dos ingredientes que vão compor a dieta fica a critério de cada grupo de pesquisa, podendo esses serem associados à uma dieta padrão (nutricionalmente adequada) de roedores (VANZELA et al, 2010). Estudos experimentais em ratos que utilizaram dieta de cafeteria mostram alterações no metabolismo glicídico, lipídico e na

função endotelial mesmo sem alterações no peso, e os efeitos dessa dieta sobre a saúde da prole vêm sendo bastante estudado (NADERALI et al, 2001).

O NutriSBioativoS trabalha com uma dieta sólida que apresenta fortes características das dietas de cafeteria, contendo alto teor de carboidratos simples, (CARVALHO et al., 2018) e que foi capaz de ocasionar aumento da glicemia em jejum (SANTOS J. P. S., 2016), triglicerídeos (SANTOS J. H., 2016), VLDL no plasma (SILVA, 2016), ganho de peso (OLIVEIRA, 2017), deposição de gordura no fígado (AGUIAR, 2017), alterações morfológicas e intensa marcação do Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) (SALVIANO, 2017).

Diferente de várias dietas experimentais encontradas na literatura que não apresentam informações acerca do índice glicêmico e da carga glicêmica, essa dieta apresenta alto índice glicêmico e alta carga glicêmica, calculados *in vivo* usando metodologia utilizada em estudos que determina o índice glicêmico e carga glicêmica para humanos (CARVALHO et al., 2018).

3.1.1. Carboidratos e glicemia

Uma das moléculas orgânicas mais abundantes na natureza são os carboidratos. Eles possuem uma grande variedade de funções, dentre elas, o fornecimento de energia para os organismos, por meio das dietas, gerando armazenamento de energia no corpo e atuando na membrana celular por intermédio de comunicações intracelulares (CHAMPE et al, 2006).

Os carboidratos quando passam por hidrólise liberam substâncias, conhecidas como poliidroxialdeídos ou poliidroxicetonas, eles apresentam inúmeras cadeias de carbonos, sendo ricos em hidrogênio e oxigênio. Possuem a fórmula geral $(CH_2O)_n$ apresentada pela maioria das moléculas. De acordo com o número de ligações glicosídicas podem ser divididos em três classes principais: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (FRANCISCO JR. et al, 2008).

De acordo com Barreiros et al (2012) “Os monossacarídeos são sólidos cristalinos e incolores, são solúveis em água e a maioria tem sabor adocicado”, entre eles estão a glicose, frutose e galactose, de grande importância como fonte de energia (SOLOMONS et al, 2009). A glicose é o maior monossacarídeo encontrado no organismo, e nos animais, a glicose é a principal forma de transporte de carboidratos na corrente sanguínea. O mais doce de todos os monossacarídeos é a frutose, que quando digerida é metabolizada no fígado e convertida em

glicose. Outro monossacarídeo importante é a galactose, produzido a partir da hidrólise da lactose (RIBEIRO e SERAVALLI, 2007).

Os oligossacarídeos resultam da ligação glicosídica entre cadeias curtas de monossacarídeos, entre dois a dez, sendo os mais abundantes os dissacarídeos (JOHANNSEN et al, 2012; NELSON et al, 2014). Os principais tipos de dissacarídeos na nutrição humana são: maltose, sacarose e lactose. A maltose é formada por duas moléculas de glicose, a sacarose por sua vez, uma molécula de glicose e uma de frutose e a lactose por uma de glicose e uma de galactose.

Com relação aos polissacarídeos, Nelson et al (2014) afirmam que ainda são os mais encontrados na natureza, sendo polímeros de média a alta massa molecular. Diferem na sua identidade das unidades monossacarídicas ou monoméricas, nos tipos de ligação que os unem, no comprimento das suas cadeias e no grau de ramificação destas. A maior parte dos polissacarídeos são formados por glicose, como o amido e o glicogênio. O amido em geral é a forma de armazenamento de energia das plantas e o glicogênio é a reserva energética dos animais (DEMONTE et al, 2008).

Os carboidratos também diferem em simples e complexos, entre os carboidratos simples estão os monossacarídeos e alguns oligossacarídeos, de digestão e absorção rápida, produzindo um aumento da taxa de glicose no sangue. Já os complexos são os polissacarídeos, que pela lenta absorção o organismo se sente saciado por mais tempo. Devido ao fato de o organismo não digerir e nem absorver todos os carboidratos com a mesma velocidade, um mecanismo denominado índice glicêmico (IG) foi desenvolvido para avaliar a atuação dos carboidratos sobre a glicose sanguínea (SAPATA et al, 2006).

Segundo Batista et al. (2008), o IG é uma medida da ação dos alimentos sobre as concentrações de glicose sanguínea pós-prandial, comparado com o efeito do padrão de referência. Alimentos que elevam rapidamente as concentrações de glicose no sangue possuem um alto IG, enquanto alimentos que elevam lentamente possuem um baixo IG. E esses alimentos de baixo IG que proporcionam saciedade têm sido bastante estudados.

Outro mecanismo importante para avaliação dos carboidratos é a carga glicêmica (CG) dos alimentos, na qual mede o efeito total de uma determinada quantidade de carboidratos sobre a glicose plasmática, representando o produto do IG de um alimento pelo conteúdo do seu carboidrato disponível. A CG se refere tanto à quantidade como à qualidade do carboidrato consumido, podendo ser classificada em baixa carga glicêmica ($CG < 10$) e alta carga glicêmica ($CG > 20$) (SILVA et al., 2009).

3.1.1.1. Recomendação de consumo dos carboidratos

A Organização Mundial da Saúde (2002) indica que o consumo de carboidratos fique entre 45 a 65% do valor energético total (VET), sendo que a ingestão de açúcares simples não deve ultrapassar 10% do valor energético total. Outras pesquisas sugerem que a ingestão diária de carboidratos seja no mínimo 55% do valor energético total, variando as fontes, tanto para crianças acima de 2 anos como para adultos. Para idosos esse percentual deve ser visto de maneira individualizada, visto que padrões de ingestão de alimentos podem ser alterados por mudanças na percepção do gosto, doença crônica e uso de medicação (FAO, 1998).

Destaca-se que um fator importante a ser visto em dietas hiperglicídicas é a palatabilidade que esses alimentos apresentam, uma vez que, alimentos com alto índice de carboidratos podem ser mais prazerosos. A influência da palatabilidade sobre o apetite e a ingestão de alimentos nos seres humanos tem sido investigada em vários estudos. Existe um aumento na ingestão de alimentos à medida que a palatabilidade aumenta (EUFIC, 2006).

3.1.2. Impacto à saúde

A composição da dieta pode afetar a capacidade de manter o equilíbrio energético e também afeta a proporção de excesso de energia que será armazenado como gordura corporal. Os carboidratos podem influenciar diretamente em doenças humanas por afetar processos fisiológicos e metabólicos, influenciando assim os fatores de risco para a doença ou o próprio processo de doença (FAO, 1998).

Uma dieta que possui grande quantidade de carboidratos é capaz de aumentar a produção de ácidos graxos, tendo como consequência o acúmulo de gordura corporal. Experimentos realizados com ratos que foram alimentados com dieta de altas quantidades de carboidrato e lipídeos indicaram que ocorreu o aumento nos depósitos de gordura retroperitoneal e epididimal e na produção de glicerol-3-fosfato pelo glicerol. Além disso, foi evidenciado que a dieta rica em carboidrato ativou o fluxo simpático tanto para o tecido adiposo marrom quanto para o branco, induzindo a sua quantidade celular (QUEIROZ et al, 2012).

O estudo feito por Reynés et al (2014) mostrou que após 90 e 120 dias de indução da alimentação em ratos *Wistar*, por meio da dieta de cafeteria, observou-se um aumento no peso corporal e adiposidade, no tecido adiposo branco (visceral e subcutâneo) e também no tecido adiposo marrom. Houve também um aumento de lipídeos no fígado, apontando assim que a dieta de cafeteria é capaz de causar obesidade em ratos.

3.2. OBESIDADE

3.2.1. Definição, diagnóstico, tratamentos

A obesidade é ocasionada por um grande consumo de energia, ultrapassando o valor gasto pelo organismo e as atividades do dia a dia. Define-se obesidade, então, uma enfermidade crônica, que se caracteriza pelo acúmulo excessivo de gordura, comprometendo a saúde do indivíduo. Considerada como um dos problemas de saúde pública mais sérios da sociedade moderna, devido às sérias complicações patológicas que essa doença acarreta (CUPPARI, 2014; SILVA E SILVA, 2014)

O consumo excessivo e a redução do gasto energético se devem a fatores multifatoriais, envolvendo diversos aspectos culturais, sociais e econômicos, por isto, Mancini (2001) afirma que a obesidade é uma doença complexa, de diversas causas e suficientemente comum para estabelecer uma discussão na saúde pública, assim como um dilema clínico importante, demonstrando a necessidade de um manejo individualizado para o paciente com obesidade.

Segundo a ABESO (2016), o índice de massa corporal (IMC) é uma medida que relaciona peso e altura, mesmo não apresentando uma boa relação com a quantidade de gordura corporal é um bom indicador de obesidade considerado simples, prático e sem custo. Os valores considerados normais e a classificação da obesidade em graus progressivamente maiores de morbimortalidade são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Classificação internacional da obesidade segundo o índice de massa corporal (IMC) e risco de doença (Organização Mundial da Saúde) que divide a adiposidade em graus ou classes.

IMC (KG/M ²)	CLASSIFICAÇÃO	OBESIDADE GRAU/CLASSE	RISCO DE DOENÇA
<18,5	Magro ou baixo peso	0	Normal ou elevado
18,5-24,9	Normal ou eutrófico	0	Normal
25-29,9	Sobrepeso ou pré-obeso	0	Pouco elevado
30-34,9	Obesidade	I	Elevado
35-39,9	Obesidade	II	Muito elevado
≥40,0	Obesidade grave	III	Muitíssimo elevado

(FONTE: ABESO, 2016).

A quantidade de tecido adiposo pode ser medida precisamente por tomografia computadorizada ou ressonância magnética, e com exatidão bastante satisfatória por meio do

método de bioimpedância, sendo normal em adultos valores entre 20% e 30% para a mulher e 18 e 25% para o homem (MANCINI, 2001). Outro método utilizado no diagnóstico da obesidade é pela aferição do perímetro da cintura, no qual permite uma melhor avaliação aproximada da massa de gordura intra-abdominal e da gordura total do corpo (SISVAN, 2011).

Também é importante destacar que o acúmulo de gordura abdominal e visceral não dependem diretamente do peso, podendo atingir indivíduos com IMC de eutrofia, uma vez que o IMC não diferencia massa gorda de massa magra, muito menos gordura central de gordura periférica. Existem também diferenças entre os grupos étnicos quando se leva em consideração as medidas de IMC e porcentagem de gordura como uma medida preditiva de adiposidade e risco para a saúde (ABESO, 2016).

Em estudo realizado por Maffetone et al. (2017) mostraram que 62 a 76% da população mundial chegou a atingir níveis de gordura corporal que podem vir a prejudicar a saúde, a curto e/ou longo prazo, sendo esta condição rotulada como uma pandemia. Em países desenvolvidos como Estados Unidos, Nova Zelândia, Grécia e Islândia verificou-se taxas da prevalência de sobrepeso e obesidade de até 90% em adultos e 50% nas crianças, e segundo pesquisadores, esta crise é um problema não apenas de saúde pública, mas também representa um risco para a economia mundial.

De acordo com a ABESO (2016) o tratamento da obesidade é complexo e multidisciplinar. Em todos os casos é preciso uma mudança no estilo de vida, tendo em vista que há várias opções para o tratamento da obesidade e sobrepeso, desde atividade física e alterações no cardápio alimentar, até tratamentos farmacológicos e cirurgias. Saber em qual grau de obesidade o indivíduo se encontra é bastante importante, levando em consideração os métodos já utilizados e a vivência de cada paciente, devendo-se tratar esses indivíduos individualmente (FRANCISCHI, 2000).

3.2.2. Desordens metabólicas associadas à obesidade

Uma grande preocupação médica é o risco elevado de doenças associadas ao sobrepeso e à obesidade, tais como diabetes *mellitus* tipo 2 (DM 2), doenças cardiovasculares, alguns cânceres, hipertensão arterial sistêmica, doença arterial coronariana, dislipidemias e até a mortalidade. É importante o conhecimento das desordens metabólicas mais corriqueiras para permitir o diagnóstico antecipado e o tratamento dessas condições, e para identificar os pacientes que se favoreçam com a perda de peso (ABESO, 2016).

A gordura localizada na região abdominal, pode aumentar o risco da ocorrência de DM 2 em dez vezes, fato esse que tem aumentado de forma exponencial em vários países, inclusive no Brasil. O DM 2 é responsável por cerca de 5,2% de óbitos no mundo, sendo a quinta causa de morte; no Brasil chega a 6,4%. A hipertensão arterial, a qual está associada a fatores familiares, genéticos e ambientais e que está presente em jovens adultos de 20 a 45 anos, predomina seis vezes mais em indivíduos com obesidade do que em pessoas não obesas. O aumento de 10% na gordura corporal resulta em um aumento significativo da pressão arterial (MARIATH et al, 2007; SBD, 2016).

Em pesquisa feita por Valle et al (2002) verificou-se que de 61 crianças com obesidade avaliada, 17 (27,9%) eram hiperinsulinêmicas e apresentavam concentrações plasmáticas de triglicérides significativamente mais elevadas. Nesse estudo, a insulina foi um fator independente para triglicérides, mostrando que concentrações elevadas de insulina têm uma influência direta sobre o perfil lipídico nesta faixa etária.

Alguns trabalhos demonstraram que os homens apresentam em média 20% ou mais da gordura total como gordura visceral, enquanto que as mulheres, menos de 10%. Esse dado é relevante, pois a gordura visceral (intra-abdominal) está mais associada com as complicações metabólicas do que a gordura subcutânea abdominal e periférica (OLIVEIRA et al, 2004). Esta diferença se deve ao fato do tecido adiposo visceral ser metabolicamente mais ativo do que o tecido adiposo subcutâneo, causando, por exemplo, uma maior produção de glicose e, conseqüentemente, DM 2 e hiperinsulinismo (GOMES et al, 2010).

3.3. GORDURA CORPORAL

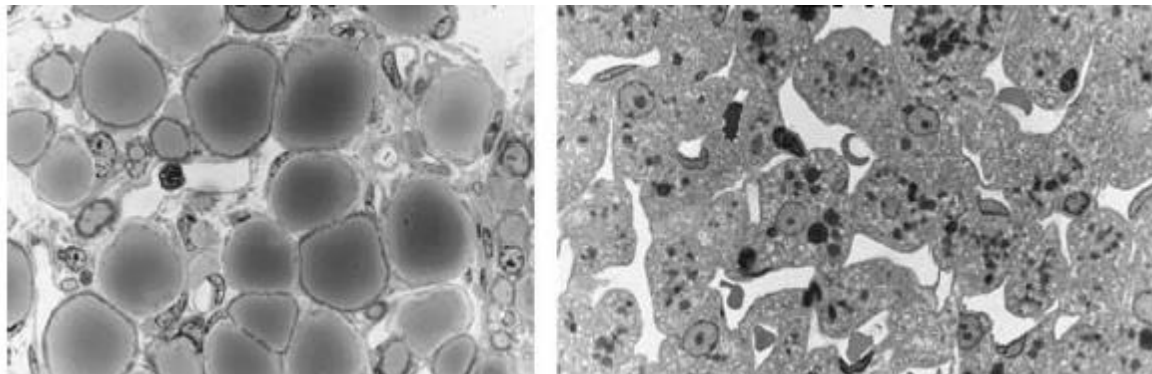
O tecido adiposo é altamente envolvido no desenvolvimento de distúrbios metabólicos, como os citados anteriormente, é o maior local de armazenamento do corpo para os triglicérides (BJORNDAL et al., 2011). Desempenha um papel importante como órgão endócrino na homeostase da energia, uma vez que os adipócitos são células secretórias que sintetizam e liberam uma variedade de peptídeos e não-peptídeos, sendo também responsável pelo metabolismo de glicose e lipídeos, coagulação do sangue, depósito e mobilização dos triglicérides e do colesterol (WAJCHENBERG, 2000; BRADFORD et al., 2010).

Dessa forma, o tecido adiposo está dividido em dois tipos, tecido adiposo marrom e tecido adiposo branco. O tecido adiposo marrom é um tecido-órgão encontrado em maior abundância em fetos e recém-nascidos e em menor abundância em humanos adultos, sendo encontrado na região que se estende da porção anterior do pescoço ao tórax. Tem como principal função a produção de calor (termogênese) e, portanto, participa ativamente na

regulação da temperatura corporal. Apresenta um grande número de mitocôndrias que, por não possuírem o complexo enzimático necessário para a síntese de ATP, utilizam a energia liberada pela oxidação de metabólitos, principalmente ácidos graxos para gerar calor (BJORN DAL et al., 2011).

O tecido adiposo branco é dividido em tecido visceral e tecido subcutâneo, e têm entre suas funções armazenar e liberar moléculas altamente energéticas, ácidos graxos, que fornecem combustível para o organismo durante os intervalos entre as refeições, isolamento térmico do corpo e amortecimento dos órgãos internos contra danos mecânicos. Outra função é a produção da leptina, um hormônio capaz de influenciar o comportamento em relação à ingestão alimentar. As estruturas dos adipócitos brancos e marrom podem ser visualizadas na figura 1 a seguir (KIPPERT, 2009; BRADFORD et al., 2010).

Figura 1. Na esquerda os adipócitos brancos, redondos com gotas lipídicas uniloculares. Na direita os adipócitos marrons, com gotículas multiloculares e presença de mitocôndrias.



(Fonte: BRADFORD et al., 2010)

Em ratos a gordura corporal, assim como em humanos é dividida em tecido adiposo marrom e branco, com as mesmas funções e finalidades. De acordo com alguns experimentos o tecido adiposo branco visceral é o maior produtor de triglicerídeos, quando comparado ao tecido adiposo subcutâneo. Apresenta três depósitos de gordura morfologicamente distintos, a subcutânea, intra-abdominal (epidídimo e perirrenal) e o mesentérico (CATALANO et al., 2010).

3.3.1. Tecido adiposo branco

O tecido adiposo branco é composto principalmente de adipócitos esféricos grandes, uniloculares, apoiados por um tecido conjuntivo bastante vascularizado. O exoesqueleto dos adipócitos é composto por uma malha fina de fibras reticulares que

protegem a célula contra impactos mecânicos. Contém células pré-adipócitos que representam cerca de 15-50% desse e é infiltrada de células imunes, tais como macrófagos, linfócitos e mastócitos (SUGANAMI et al., 2007).

Os ácidos graxos quando liberados se ligam aos receptores dos macrófagos tipo 1, induzindo síntese de citocinas inflamatórias, como Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), Interleucina – 6 (IL-6) e Interleucina 1 beta (IL1 β), resultando em inflamação local, que tem papel crucial no desencadeamento da resistência periférica à insulina. Em contrapartida macrófagos do tipo 2 expressam fatores anti-inflamatórios, como Interleucina – 10 (IL-10), considerado benéfico à saúde (BASTOS et al., 2009; KALUPAHANA et al. 2012).

A quantidade de mitocôndrias em comparação ao tecido adiposo marrom é menor e varia entre diferentes depósitos de gordura, contribuindo para a diversidade da fisiologia do tecido adiposo. Esse tecido sofre diversas remodelações de acordo com as necessidades e constantes mudanças das quantidades ingeridas de energia, e essas alterações podem ocorrer a partir da ampliação, ou seja, resultam em uma hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos, alterações da matriz extracelular e, conseqüentemente, dos subconjuntos das células imunes presentes (DEVEAUD et al., 2004).

A hipertrofia ocorre em resposta à secreção alterada de produtos, que com o tempo afeta negativamente remodelagem do tecido adiposo. Em paralelo, a hipertrofia fornece proteção valiosa contra os efeitos lipotóxicos sistêmicos nocivos pelo excesso de exposição de lipídeos. Vale ressaltar que essas remodelações necessitam de energia, sendo rigorosamente controladas pela insulina, leptina e outras moléculas reguladoras do metabolismo energético, a fim de evitar danos ao tecido (MARIMAN E WANG, 2010).

Estudos realizados em ratos mostraram que os depósitos internos são mais sensíveis às condições de jejum em relação à indução da produção de triglicerídeos, quando comparados ao tecido adiposo subcutâneo. Assim, o aumento da gordura visceral encontrado na obesidade está mais associado a uma maior mobilização de ácidos graxos livres na circulação, prejudicando o metabolismo no fígado e levando à intolerância à glicose, resistência à insulina e dislipidemias (PALOU et al., 2009).

Palou et al. (2009) encontraram em ratos taxas mais elevadas de formação de lipídeos utilizando glicerol 3-fosfato, glicose ou acetato como substratos para síntese de triglicerídeos em tecido adiposo gonadal em comparação com a gordura subcutânea.

3.3.1.1. Tecido adiposo branco visceral

O tecido adiposo visceral (TAV) é o mais ativo, ou seja, mais sensível à lipólise e mais resistente à ação da insulina e o seu acúmulo é mais preditivo de mortalidade associada à obesidade, gerando assim maiores complicações aos indivíduos que possuem maior quantidade do tecido visceral. Além disso, o TAV secreta maiores concentrações de adipocinas ligadas a processos inflamatórios, como resistina, angiotensina I, IL-6, TNF- α , que podem acarretar em resistência à insulina e, conseqüentemente, em diabetes do tipo 2, como citado anteriormente (HERMSDORFF et al., 2004).

Os depósitos de gordura visceral da cavidade abdominal podem ser diferenciados em gordura retroperitoneal, perirenal, epididimal e omental. Em humanos, a gordura mesentérica é a de maior dificuldade para se ter acesso, devido a sua localização anatômica, e a gordura omental é a de maior facilidade, por envolver o abdômen. A gordura retroperitoneal, por sua vez, circunda os rins no lado dorsal da cavidade abdominal e em ratos a gordura gonadal está mais desenvolvida e com o passar dos anos sua massa aumenta (BJORNDAL et al., 2011).

Em pesquisas realizadas tanto em ratos como em humanos encontrou-se diferenças funcionais entre os adipócitos do tecido adiposo branco visceral. Nos ratos, por exemplo, o tecido retroperitoneal possui maior expressão de enzimas quando comparado aos depósitos de gordura mesentérica. Normalmente os adipócitos viscerais expressam maiores quantidades de genes basais que estão relacionados à lipogênese, lipólise e oxidação de ácidos graxos, apresentando também uma resposta metabólica mais rápida do jejum do que as células pertencentes à gordura subcutânea (WRONSKA et al. 2012).

Ainda segundo Wronska et al. (2012), em humanos é mais difícil a interpretação dos estudos, uma vez que em sua grande maioria comparam os tecidos de pessoas eutróficas com pessoas com obesidade, ou pela diferença da deposição dos tecidos em homens e mulheres, sendo mais pronunciadas em mulheres, principalmente nos glúteos. Os fatores genéticos e o estado hormonal de cada indivíduo influenciam diretamente na distribuição da gordura corporal. Deste modo, todos esses fatores devem ser levados em consideração em um diagnóstico.

3.3.1.2. Tecido adiposo branco subcutâneo

A gordura subcutânea é distribuída sobre a superfície do corpo na camada hipodérmica da pele. Em praticamente toda a extensão do corpo existem duas camadas de

gordura subcutânea, o tecido adiposo subcutâneo superficial e o tecido adiposo subcutâneo profundo, os quais possuem características distintas. Em comparação com o tecido adiposo visceral, a gordura subcutânea é mais celular, ou seja, tem mais células menores, proporcionalmente, devido ao potencial de diferenciação dos adipócitos subcutâneos serem maiores (WALKER et al., 2007; SBARBATI et al., 2010).

O tecido adiposo subcutâneo é considerado menos metabolicamente ativo, quando comparado ao tecido visceral e é caracterizado por uma menor taxa de infiltração de macrófagos, o que em parte explica menor produção de citocinas inflamatórias (CANCELLO et al., 2006; LAFONTAN et al., 2009). Em estudos foi demonstrado que o tecido subcutâneo é responsável pela maior parte de produção da leptina no corpo e a quantidade de gordura glúteo e femoral também se correlaciona positivamente com as concentrações séricas de adiponectina. Desse modo, inferiu-se que o tecido subcutâneo tem um papel protetor contra diabetes e doenças cardiovasculares (VAN HARMELEN et al., 1998; CYPESS et al., 2009).

Em roedores, depósitos subcutâneos, como interculápico e inguinal, parecem formar depósitos prévios viscerais, que incluem o tecido adiposo branco retroperitoneal, perigonadal e mesentérico. Cada depósito adiposo possui uma morfologia e textura específicas, distintas e reprodutíveis. Histologicamente, em ratos, a gordura subcutânea é heterogênea e contém adipócitos uniloculares maduros intercalados com pequenos adipócitos multiloculares (BERRY et al., 2013).

3.4. ESTEREOLOGIA

Na pesquisa histológica algumas vezes é necessário determinar parâmetros quantitativos tridimensionais de estruturas anatômicas a partir de cortes histológicos, por exemplo as estruturas do tecido adiposo, que são geralmente tridimensionais, opacos ou semitransparente e microcópicas. Para a realização de medições de proporções envolvendo variáveis como área, volume, número de estruturas, entre outras, o método estereológico é de grande utilidade (FRANZEN et al., 2005).

A estereologia é a ciência das relações geométricas entre uma estrutura que existe em três dimensões e as imagens daquela estrutura, que são fundamentalmente bidimensionais. A aplicação mais comum da estereologia está relacionada a imagens obtidas a partir de diferentes tipos de microscópios, como os de luz e os eletrônicos. Para este fim, é necessário que órgão ou tecido possua as mesmas características em todas as direções, ou seja, homogêneo e isotopo. Este método pode ser aplicado em qualquer estrutura que seja possível um estudo morfométrico (LACERDA, 2003).

Uma das variáveis pesquisadas frequentemente é o volume ocupado por uma estrutura. Podemos conhecer o volume de um corte determinado multiplicando a área do corte pela espessura deste. Em cortes seriados podemos conhecer o volume total de um tecido ou órgão, sem ter que analisar todos os cortes da série e sem que isto diminua significativamente a acurácia do método (AMENÁBAR et al., 2003).

Em estudo realizado por Pereira et al (1998) foi calculado a estereologia do miocárdio em ratos hipertensos, que avaliou com 25 dias e 40 dias após início da pesquisa. Observou-se que o volume dos miócitos não apresentou diferença aos 25 dias de estudo, mas diminuiu 12,6% aos 45 dias. Da mesma forma, a densidade de volume do interstício cardíaco não apresentou diferença aos 25 dias, mas aumentou 14,8% aos 40 dias.

Quando é necessário obter a densidade de determinadas estruturas em órgãos ou tecidos é preciso criar um sistema que nos permita obter a proporção destas estruturas nestes órgãos ou tecidos. Para este fim a estereologia pode ser utilizada como método (LACERDA, 2003).

3.5. ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

O armazenamento de gordura em seres humanos pode ser estimado utilizando indicadores, como a circunferência da cintura, a relação cintura / quadril, espessura da dobra da pele e bioimpedância. O índice de adiposidade corporal trata – se de uma nova forma de calcular a porcentagem de gordura no corpo e não leva em consideração o peso do indivíduo, já que uma pessoa magra e musculosa pode pesar bastante e ser saudável (O'BRIEN et al., 2002; WHO, 2004).

Em estudos experimentais em ratos, vários parâmetros, como peso corporal, índice de massa corporal, gordura corporal total, massa de gordura, índice de adiposidade, índice de Lee, ressonância magnética e absorciometria de raios-X de energia dupla, têm comumente sido utilizados para demonstrar aumento da adiposidade e investigar os mecanismos subjacentes à obesidade, porém as classificações como normal, sobrepeso e obesidade não foram bem definidas nesses estudos (WILSON et al., 2007; SINITSKAYA et al., 2007).

Deste modo, o índice de adiposidade deve ser utilizado como uma medida, uma vez que o grau de gordura tende a aumentar gradualmente com a obesidade, principalmente o tecido visceral e a classificação dos graus de adiposidade em ratos utilizando o índice de adiposidade é essencial para estudos que utilizam modelos experimentais, principalmente quando se refere à obesidade. Devido a sua facilidade de aplicação e fidedignidade, pode ser

considerado um bom substituto do IMC, auxiliando no diagnóstico de obesidade (SOUZA et al., 2015; LEOPOLDO et al., 2016).

Assim, mesmo que estudos de composição corporal em ratos *Wistar* não sejam inéditos, uma vez que existem vários publicados com essa linhagem na literatura, para a dieta desenvolvida pelo NutriSBioativoS esse aspecto ainda não havia sido avaliado e somado a todos os outros efeitos já demonstrados anteriormente, relacionados à obesidade e suas complicações, os resultados aqui descritos irão enriquecer o conhecimento sobre o que essa dieta é capaz de provocar sobre a estrutura de adipócitos a adiposidade visceral em ratos *Wistar*.

4. METODOLOGIA

4.1. ANIMAIS

Foram utilizados no experimento, dez ratos machos, da linhagem *Wistar*, adultos, pesando entre 250 e 310 gramas (g), mantidos no biotério da Universidade Potiguar (UNP) – Natal/RN em condições padrão de luminosidade (12h/12h – claro/escuro) e temperatura entre 23 e 25°C; água e alimento *ad libitum*. Todos os experimentos foram realizados em concordância com o Guia de Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (2011) dos Institutos Nacionais de Saúde, e após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da UNP (CEUA – UNP) sob protocolo: 012/2015.

4.2. DESENHO EXPERIMENTAL

As dietas utilizadas neste estudo foram a ração Labina® produzida pela Purina® do Brasil, sendo essa adquirida comercialmente, e a dieta experimental, de alto índice e alta carga glicêmica, produzida de acordo com Carvalho et al., (2018) no laboratório de Técnica Dietética da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

Os animais foram distribuídos em dois grupos, com cinco animais cada, mantidos em gaiolas individuais, cada grupo recebendo um tipo de dieta. As gaiolas foram abastecidas com ração duas vezes na semana, sendo 100 g por gaiola, durante 17 semanas. Após detecção de obesidade, por meio do Índice de Lee acima de 0,300 g/cm, os ratos foram anestesiados e eutanasiados para coleta do tecido adiposo visceral (retroperitoneal, epididimal e perirenal). Por fim as lâminas histológicas foram confeccionadas e realizou – se a análise estereológica e o cálculo do índice de adiposidade visceral.

É válido ressaltar que este trabalho é fruto de uma pesquisa maior realizada no Departamento de Nutrição da UFRN pelo grupo NutriSBioativoS, com início anterior ao presente estudo.

4.3. MÉTODOS

4.3.1. Obtenção da dieta experimental

A dieta experimental de alto índice glicêmico e alta carga glicêmica (HGLI) foi produzida baseando - se no estudo realizado por Carvalho et al., (2018). A ração padrão utilizada foi a Labina®, com adição de açúcar refinado e leite condensado em sua composição.

As medidas utilizadas foram 42,5 g de ração padrão, 42,5 mL de leite condensado e 9,6 g de açúcar refinado para obtenção de 100 g de ração. Para a produção em forma de cilindros, a ração padrão foi inicialmente triturada e posteriormente adicionou – se os demais ingredientes, misturando manualmente. Em seguida foram moldadas em formas de cilindro e assados em forno pré-aquecido a 180° C, por aproximadamente 40 minutos, até ficarem secos e dourados, como demonstrado na figura 2.



Figura 2. Dieta experimental produzida pelo grupo de pesquisa NutriSBioativoS.

4.3.2. Coleta do tecido adiposo

Ao fim das 17 semanas de experimento, os animais ficaram em jejum por 8 – 12 h e foram avaliados quanto às medidas zoométricas, confirmando a obesidade calculado pelo Índice de Lee, de acordo com Oliveira (2017). Posteriormente, foram anestesiados com 250 mg de cloridrato de tiletamina e 250 mg de cloridrato de zolazepam. Por fim os animais foram eutanasiados e o tecido adiposo visceral (retroperitoneal, epididimal e perirenal) foi coletado para posteriores análises.

4.3.3. Confeção das lâminas histológicas e análise microscópica do tecido adiposo visceral

Após coleta do tecido adiposo visceral realizada a partir de incisões, o mesmo foi fixado à temperatura ambiente em solução de formalina tamponada 4% por 24 h (tempo necessário para reação), com a finalidade de reduzir as perdas, prevenindo a autólise e mantendo o tecido o mais próximo do que era real. Posteriormente, o material passou por desidratação para retirada total da água presente, em uma série alcoólica crescente, evitando sua retração pronunciada. Em seguida foi realizada clarificação para penetração da parafina e emblocamento. Após secção do tecido adiposo, obteve espessura de 4 µm. Para finalização da confecção das lâminas, foi realizada sua coloração com hematoxilina e eosina (MARTINS et al., 2017), com posterior análise estereológica.

4.3.4. Estereologia

A amostragem ocorreu de forma sistemática, uniforme e aleatória, em que as imagens foram capturadas, utilizando uma câmera digital DS-Ri1 (Nikon, Edgewood, Nova York, EUA) acoplada a um microscópio Eclipse Ni (Nikon, Edgewood, Nova York, EUA) 200x.

Inicialmente um sistema teste que consta em um conjunto de linhas retas e pontos foi sobreposto sobre o espaço referêncial: tecido adiposo visceral, para se obter a densidade do volume (V_v) referente à fração de volume que é ocupada pelos adipócitos, como pode ser visualizado na figura 3, a seguir.

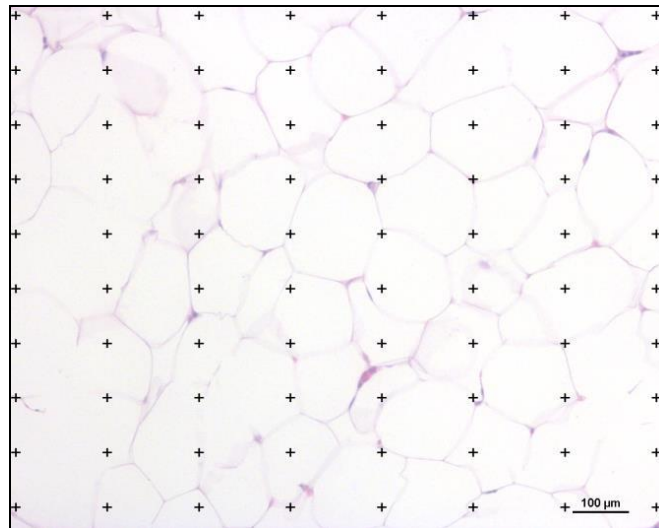


Figura 3. Sistema teste sobre o tecido adiposo visceral dos ratos *Wistar*.

Deste modo, foram contados o número total de pontos sobre a região de interesse, os adipócitos, denominados de Pint e o número total de pontos sobre o espaço referêncial, denominado Pref. Utilizou – se então a seguinte equação:

$$V_v = \sum \text{Pint} \div \sum \text{Pref}$$

No qual a densidade do volume varia de 0 a 1 e pode ser expressa como porcentagem (RIBEIRO et al., 2004).

Volume total (V_{TOT}) dos adipócitos ($V_{TOTADIP}$)

Foi realizada a multiplicação da densidade do volume (V_v) pelo volume do tecido adiposo ($V_{\text{tecido adiposo}}$) para determinar o volume total de adipócitos (RIBEIRO et al., 2004), como pode ser observado na fórmula a seguir:

$$V_{TOT} = V_V \times V_{ADIPOSO}$$

Onde o volume do tecido adiposo foi obtido por meio da multiplicação do peso do tecido adiposo em gramas e a densidade de tecido adiposo (0,92 g/cm³) (FARVID et al., 2004).

$$V_{ADIPOSO} = P_{TECADIP} (g) \times D_{TECADIP} (g/cm^3)$$

Área seccional média de adipócitos (ASM)

Para obtenção da área seccional média de adipócitos utilizou – se a relação entre a densidade do volume de adipócitos (V_v) e o dobro da densidade numérica por área de adipócitos (QA), de modo que o número de adipócitos foi estimado com auxílio de um frame (Figura 4) e considerando a área de teste do frame (BARGUT et al., 2016), de acordo com as equações a seguir:

$$ASM = V_V \div 2 \times QA$$

$$QA = \text{Número de adipócitos (frame)} \div \text{Área (frame)}$$

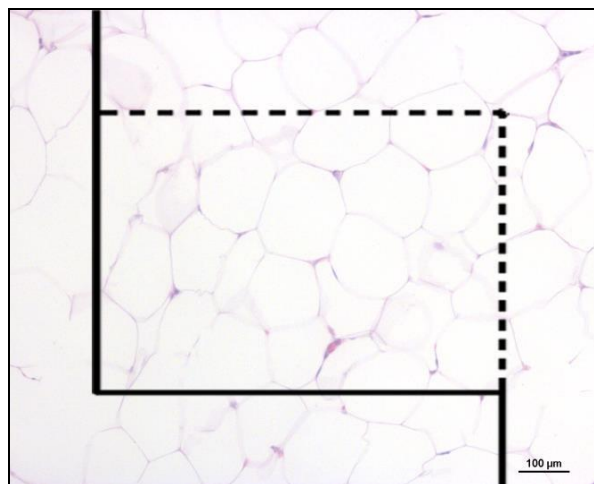


Figura 4. Frame posicionado sobre o tecido adiposo visceral dos ratos *Wistar*.

4.3.5. Índice de adiposidade visceral

O tecido adiposo visceral de cada grupo foi pesado em balança de precisão individualmente. A soma dos tecidos perirenal, retroperitoneal e epididimal foi considerada como a gordura visceral total. Deste modo, o índice de adiposidade (IA) visceral foi obtido a partir da fórmula proposta por Leopoldo et al. (2016), adaptando a gordural corporal total como sendo a gordura visceral total:

$$IA = (\text{Gordura visceral total} \div \text{Peso corporal final}) \times 100$$

4.3.6. Análise estatística

Os dados foram analisados a partir de um banco de dados para devidas correlações e tabulações das variáveis utilizando o programa Microsoft Excel Windows. O programa IBM® SPSS® Statistics 22.0 (Armonk, Nova York, EUA) foi utilizado para os testes estatísticos. A partir dos dados, para plotagem dos gráficos, utilizou-se o programa GraphPadPrism, versão 5.0 (La Jolla, Califórnia, EUA).

Para comparação entre os grupos para as análises das variáveis contínuas índice de adiposidade, peso do tecido adiposo, peso corporal, densidade do volume, área seccional média e volume total de adipócitos foi utilizado o teste não paramétrico de *Mann-Whitney*. A correlação de Spearman foi utilizada. Para todos os testes, p valores inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

5. RESULTADOS

5.1. ANÁLISE ESTEREOLÓGICA DO TECIDO ADIPOSEO DE RATOS APÓS A INGESTÃO DA DIETA EXPERIMENTAL (HGLI)

Durante 17 semanas, os animais foram submetidos às dietas e, ao final do experimento, por meio da análise estereológica, foi possível constatar que os ratos alimentados com a dieta experimental (HGLI) apresentaram densidade de volume de adipócitos igual a 97,0% ($p = 0,009$), área seccional média de adipócitos equivalente a $1387 \mu\text{m}^2$ ($p = 0,004$) e volume total de adipócitos de $6,97 \text{ cm}^3$ ($p = 0,004$), o que corresponde a um aumento de 8%, 25% e 58%, respectivamente. Isso foi significativamente maior que os valores observados para os animais que consumiram a dieta padrão. O resultado dessa análise pode ser observado na figura 5 abaixo.

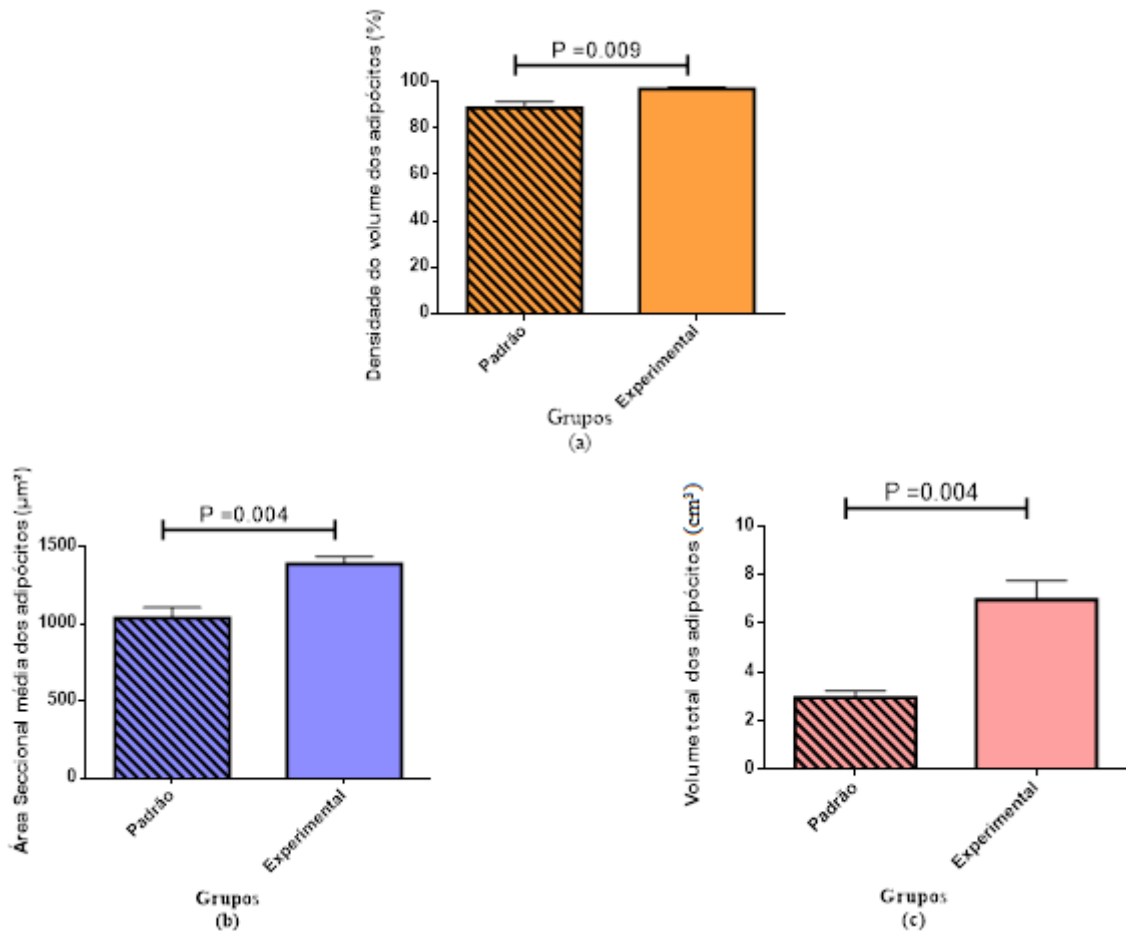


Figura 5. Estereologia do tecido adiposo visceral de ratos *Wistar* machos submetidos a dieta Padrão (dieta Labina®) e Dieta experimental (HGLI) durante 17 semanas. (a) densidade volumétrica dos adipócitos nos grupos padrão e HGLI; (b) área seccional média de adipócitos nos grupos padrão e HGLI; (c) Volume total de adipócitos nos grupos padrão e HGLI. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão e comparados pelo teste U de Mann-Whitney. Dieta HGLI: Mistura composta por Labina®, leite condensado e açúcar (1: 1: 0,2). HGLI: Dieta de alto índice glicêmico e alta carga glicêmica

5.2. PESO E ADIPOSIDADE VISCERAL DE RATOS ALIMENTADOS COM A DIETA EXPERIMENTAL (HGLI)

Ao final do experimento, também, foram analisados o peso de cada tecido adiposo, o peso corporal final e o índice de adiposidade visceral dos animais em ambos os grupos, sendo possível constatar que foram maiores nos animais alimentados com a dieta experimental (HGLI).

O peso do perirenal ($p = 0,008$), o peso do retroperitoneal ($p = 0,001$), o peso do epididimal ($p = 0,022$) e o peso corporal final ($p = 0,035$) dos animais alimentados com a dieta experimental foram significativamente maiores que os animais alimentados com a dieta padrão. O peso corporal final também foi positivamente correlacionado com os tecidos adiposos perirenal ($r = 0,802$, $p = 0,001$), retroperitoneal ($r = 0,610$, $p = 0,027$) e epididimal ($r = 0,714$, $p = 0,006$). O resultado dessa análise pode ser observado na figura 6 abaixo.

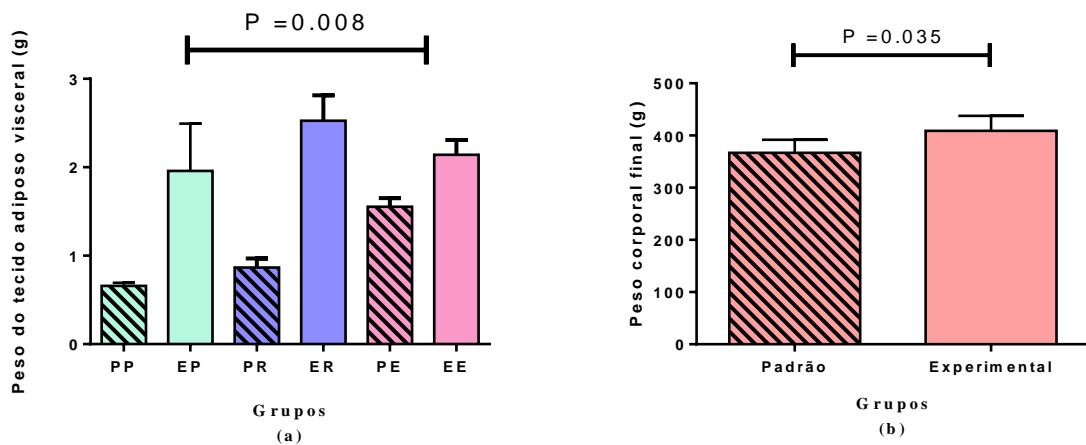


Figura 6. Peso do tecido adiposo visceral nos diferentes compartimentos (a) e corporal total (b) em ratos *Wistar* machos submetidos a dieta Padrão (dieta Labina®) e dieta experimental (HGLI) durante 17 semanas. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão e comparados pelo teste U de Mann-Whitney. Dieta HGLI: Mistura composta por Labina®, leite condensado e açúcar (1: 1: 0,2). HGLI: Dieta de alto índice glicêmico e alta carga glicêmica. PP: Padrão Perirenal, EP: Experimental Perirenal; PR: Padrão Retroperitoneal, ER: Experimental Retroperitoneal; PE: Padrão Epididimal, EE: Experimental Epididimal.

Também foi observado correlação positiva entre o peso corporal e o índice de adiposidade ($r = 0,654$, $p = 0,015$). O índice de adiposidade apresentou diferença estatística significativa maior nos animais alimentados com a dieta experimental ($p = 0,002$). O resultado está expresso na figura 7 abaixo.

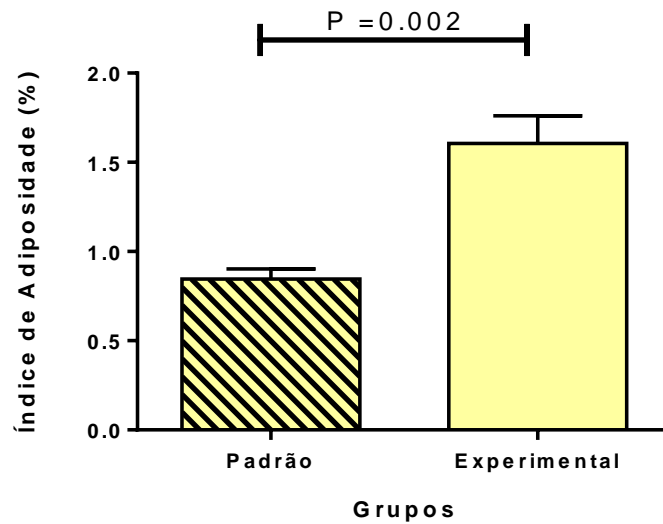


Figura 7. Adiposidade visceral em ratos *Wistar* machos submetidos a dieta Padrão (dieta Labina®) e dieta experimental (HGLI) durante 17 semanas. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão e comparados pelo teste U de Mann-Whitney. Dieta HGLI: Mistura composta por Labina®, leite condensado e açúcar (1: 1: 0,2). HGLI: Dieta de alto índice glicêmico e alta carga glicêmica.

6. DISCUSSÃO

Os diferentes depósitos de gordura têm papéis específicos baseados no seu nível de lipólise e na taxa de armazenamento de triglicerídeos. Está claro que, enquanto o tecido adiposo visceral abdominal aumenta o risco de doença relacionada à obesidade, o tecido adiposo subcutâneo, especialmente localizado nas partes inferiores do corpo, protege dos efeitos lipotóxicos por meio do armazenamento a curto e longo prazo de triglicerídeos (BJORNDAL et al., 2011). A expansão do tecido adiposo induz a inflamação crônica de baixo grau (obesidade), que contribui para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos e, dentre esses, dislipidemia, resistência à insulina e diabetes tipo 2, conforme estudos realizados por Sampey et al. (2011).

A fim de se avaliar os efeitos desse aumento de tecido adiposo, diversas dietas obesogênicas são desenvolvidas, no entanto, não é fácil encontrar dietas que reproduzam com eficiência a indução da obesidade e suas co-morbidades, principalmente dietas que se assemelhem à alimentação humana, de baixo custo, fáceis de serem reproduzidas e de alta palatabilidade (BORTOLIN et al., 2017). Neste estudo foram utilizados para produção da dieta experimental (dieta HGLI) o leite condensado, o açúcar refinado e a ração padrão para roedores.

A dieta utilizada no presente trabalho promoveu a obesidade em ratos machos da linhagem *Wistar*. A contribuição da ingestão energética para o desenvolvimento da obesidade neste modelo provocou diferenças significativas no índice de adiposidade, no peso dos compartimentos da gordura visceral (retroperitoneal, epididimal e perirenal) e no peso corporal final, entre os grupos que receberam a dieta experimental (dieta HGLI) e a dieta padrão.

Foi possível observar que quanto maior era o peso corporal dos animais alimentados com a dieta HGLI maior era o índice de adiposidade. Esses achados esperados, visto que o aumento da gordura corporal se encontra positivamente relacionado com o ganho de peso. A mesma relação também foi visualizada com o peso corporal e os tecidos adiposos perirenal, retroperitoneal e epididimal.

Dessa maneira, estes resultados corroboram os dados encontrados por Leopoldo et al. (2016), que demonstraram os diferentes graus de adiposidade em ratos *Wistar* sedentários com obesidade e sua relação com o ganho de peso dos animais. Em estudo com ratos *Wistar* feito por Oliveira (2017), usando a mesma dieta deste estudo, foi possível diagnosticar a obesidade calculando-se o Índice de Lee, medida que se relaciona ao IMC

usado para o diagnóstico do estado nutricional de humanos e, por conseguinte observou-se o ganho de peso em 96% dos animais que receberam esta mesma dieta experimental em comparação com os animais que receberam a dieta padrão.

Já no estudo de Higa et al. (2014) com camundongos alimentados por duas diferentes dietas experimentais foi mostrado que, embora o peso corporal de todos os animais tenha permanecido inalterado, foi possível visualizar aumento da massa gordurosa visceral em dois grupos de camundongos, que ingeriram por 12 semanas uma dieta hiperlipídica e uma dieta de cafeteria, podendo confirmar que as dietas foram eficazes para induzir alterações relacionadas à obesidade em camundongos. Além disso, o diâmetro dos adipócitos foi aumentado no grupo que recebeu a dieta de cafeteria em comparação com os demais grupos estudados.

Desse modo, uma outra característica da obesidade é o aumento do diâmetro dos adipócitos, a hipertrofia, sendo essa relacionada à menor adipogênese (menor produção de adipócitos ao longo do tempo), ocasionando um maior acúmulo de lipídeos nos adipócitos já existentes. O aumento dos adipócitos em tamanho e em número é inevitável para acomodar o maior armazenamento de lipídios e a força anabólica devido à hiperinsulinemia. Entretanto, na grande maioria dos casos, a pressão anabólica da expansão celular atinge um patamar em que a pressão adicional não pode ser mais acomodada, devido a restrições de espaço corporal, e passa-se a criar um estado de estresse nos adipócitos, que propicia o início de um processo inflamatório (ARNER et al., 2010; REILLY et al., 2017).

No presente estudo foi realizada a análise estereológica do tecido adiposo dos ratos após ingestão da dieta HGLI, sendo possível comprovar hipertrofia nos adipócitos, uma vez que houve aumento significativo na densidade volumétrica, na área seccional média e no volume dos adipócitos. Um estudo realizado por Salviano (2017), com a utilização desta mesma dieta, mostrou alterações morfológicas e intensa marcação de TNF- α em tecido adiposo visceral de ratos *Wistar*, corroborando os resultados do presente estudo, dado que a resposta inflamatória é consequência do aumento do tamanho dos adipócitos.

A dieta experimental em questão foi capaz de provocar alterações significativas em ratos *Wistar*, destaque para estes por serem um grupo heterogêneo e não consanguíneos (SANTOS et al., 2012), modificando o índice de adiposidade, o peso dos compartimentos da gordura visceral, a densidade volumétrica, a área seccional média e o volume dos adipócitos. Em outras pesquisas, com a utilização da mesma dieta e mesma linhagem de animais, também machos, foi observado alteração na glicemia de jejum; aumento significativo no ganho de peso, resultando no diagnóstico da obesidade; aumento no perímetro da cintura; deposição de

gordura no fígado; triglicerídeo e lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) alterados no plasma dos animais (AGUIÁR, 2017; OLIVEIRA, 2017; SANTOS, J. P. S., 2016; SANTOS, J. H., 2016, SILVA, 2016). Das características da dieta, vale ressaltar o seu alto teor de carboidratos e sua composição sólida, diferente da maioria das dietas utilizadas na literatura, compostas por alimentos hiperlipídicos e líquidos, e não apresentam o IG e a CG quantificados (CARVALHO et al., 2018).

7. CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados neste estudo, a dieta experimental com alto teor de carboidrato foi capaz de provocar aumento no tecido adiposo visceral, de acordo com a análise estereológica, além do peso do tecido adiposo visceral nos diferentes compartimentos e índice de adiposidade elevados em ratos *Wistar* machos e adultos.

REFERÊNCIAS

ABESO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. **Diretrizes brasileiras de obesidade**, 4. ed. 2016.

AGUIAR, Ana Júlia Felipe Camelo. **Efeito de uma dieta com alto teor de carboidratos no fígado de ratos *Wistar***. 2017. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

AMENÁBAR, J. M. et al. Uso da Estereologia como Método na Pesquisa Histológica. **Revista da Faculdade de Odontologia**, v. 44, n. 1, p. 62-65, jul., 2003.

ARNER, E. et al. Adipocyte Turnover: Relevance to Human Adipose Tissue Morphology. **Diabetes**, v. 59, n. 1, p. 105-109, jan., 2010.

BARGUT, T. C. L. et al. Fish oil diet modulates epididymal and inguinal adipocyte metabolism in mice. **Food & function**, v. 7, n. 3, p. 1468-1476, fev., 2016.

BARREIROS, A. L. B. S.; BARREIROS, L. M. Química de biomoléculas. Notas de aula. Sergipe: Universidade Federal de Sergipe, 2012.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Effects of dietary bioactive compounds on obesity induced inflammation. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646-656, jul., 2009.

BATISTA, S. M. M. et al. Avaliação da resposta glicêmica, saciedade e palatabilidade após o consumo de dietas de alto e baixo índice glicêmico. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 315-323, jul./set., 2008.

BAYOL, S. A. et al. A maternal “junk food” diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic fatty liver disease in rat off spring. **Endocrinology**, v. 151, n. 4, p. 1451-1461, abr., 2010.

BERRY, D. C. et al. The developmental origins of adipose tissue. **Development**, v. 140, n. 19, p. 3939-3949, set., 2013.

BJØRNDAL, B. et al. Different adipose depots: their role in the development of metabolic syndrome and mitochondrial response to hypolipidemic agents. **Journal of obesity**, v. 2011, n. 1, p. 1-15, dez., 2011.

BORTOLIN, R. C. et al. A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. **International Journal of Obesity**, v. 42, p. 1-30, set., 2017.

BRADFORD, P. G. **Adipose tissue and inflammation**. 1. ed. New York: CRC Press, 2010. P. 1-318.

BRASIL. Ministério da saúde. Hábitos dos brasileiros impactam no crescimento da obesidade e aumenta prevalência de diabetes e hipertensão. 2016. Disponível em: <<http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/04/Habitos-dos-brasileiros-impactam-no-crescimento-da-obesidade.pdf>> Acesso em: 29 de novembro de 2017.

CANCELLO, R. et al. Increased infiltration of macrophages in omental adipose tissue is associated with marked hepatic lesions in morbid human obesity. **Diabetes**, v. 55, n. 6, p. 1554-1561, jun., 2006.

CARVALHO, F. M. C. et al. Directly measurement and calculation of the glycemic index and glycemic load in na experimental pellet-diet for obesity induction and its metabolic effects in *Wistar* rats. **Food Research International**, 2018. (Submetido).

CATALANO, K. J.; STEFANOVSKI, D.; BERGMAN, R. N. Critical role of the mesenteric depot versus other intra-abdominal adipose depots in the development of insulin resistance in young rats. **Diabetes**, v. 59, n. 6, p. 1416-1423, mar., 2010.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. H.; FERRIER, D. R. Bioquímica ilustrada. 3. ed. p. 544, Porto Alegre: Artmed, 2006.

CYPESS, A. M. et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1509-1517, abr., 2009.

DEMONTE, A.; OLIVEIRA, J. E. D; Aprendendo a Aprender. **Ciências Nutricionais**. 2. ed, p. 93-105, São Paulo: Sarvier, 2008.

DEVEAUD, C. et al. Regional differences in oxidative capacity of rat white adipose tissue are linked to the mitochondrial content of mature adipocytes. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 267, n. 1, p. 157-166, dez., 2004.

ELAHI, M. M. et al. Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. **British Journal of Nutrition**, v. 102, n. 4, p. 514-519, ago., 2009.

EUFIC - The determinants of food choice. In: European Food Information Council. Disponível em: <<http://www.eufic.org/en/healthy-living/article/the-determinants-of-food-choice>> Acesso em: 26 de novembro de 2017.

FAO/WHO. Carbohydrates in human nutrition: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. **FAO Food and Nutrition Paper**, n. 66, p. 14-18, 1998.

FARVID, M. S. et al. Association of adiponectin and resistin with adipose tissue compartments, insulin resistance and dyslipidaemia. **Diabetes, obesity and metabolism**, v. 7, n. 4, p. 406-413, nov., 2004.

FRANÇA, F. C. O. et al. Mudanças dos hábitos alimentares provocados pela industrialização e o impacto sobre a saúde do brasileiro. **Anais do I Seminário Alimentação e Cultura na Bahia**, p. 13-15, 2012.

FRANCISCHI, R. P. P. de et al. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 1, p. 17-28, abr., 2000.

FRANCISCO JR, W. E. Carboidratos: Estrutura, Propriedade e Funções. **Química Nova na Escola**, v. 1, n. 29, p. 8-13, mai., 2008.

FRANZÉN, L. E. et al. Semiquantitative evaluation overestimates the degree of steatosis in liver biopsies: a comparison to stereological point counting. **Modern pathology**, v. 18, n. 7, p. 912-916, nov., 2005.

GOMES, F. et al. Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 2, p. 273-279, jun., 2010.

GOULARTE, J. F. **Efeitos da modificação alimentar e exercício físico sobre alterações produzidas pela dieta de cafeteria em ratas**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

HERMSDORFF, Helen HM; MONTEIRO, Josefina BR. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema?. **Arquivo brasileiro de endocrinologia e metabolismo**, v. 48, n. 6, p. 803-811, set., 2004.

HIGA, T. S. et al. Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice. **International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology**, v. 6, n. 1, p. 47, mar., 2014.

HILL, J. O.; WYATT, H. R.; PETERS, J. C. Energy balance and obesity. **Circulation**, v. 126, n. 1, p. 126-132, jul., 2012.

JOHANNSEN, D. L. et al. Ectopic lipid accumulation and reduced glucose tolerance in elderly adults are accompanied by altered skeletal muscle mitochondrial activity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 1, p. 242-250, jan., 2012.

KALUPAHANA, N. S. et al. Overproduction of angiotensinogen from adipose tissue induces adipose inflammation, glucose intolerance, and insulin resistance. **Obesity**, v. 20, n. 1, p. 48-56, jan., 2012.

KIPPERT, C. J. **Proteína desacoplante na gordura marrom**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2009.

LACERDA, C. A. M. Stereological tools in biomedical research. **Anais da Academia brasileira de Ciências**, v. 75, n. 4, p. 469-486, dez., 2003.

LAFONTAN, M.; LANGIN, D. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. **Progress in lipid research**, v. 48, n. 5, p. 275-297, set., 2009.

LEOPOLDO, A. S. et al. Classification of different degrees of adiposity in sedentary rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 49, n. 4, p. 1-9, fev., 2016.

LOUZADA, M. L. C. et al. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 49, n. 38, p. 1-11, abr., 2015.

MAFFETONE, P. B.; RIVERA, I. D.; LAURSEN, P. B. Overfat adults and children in developed countries: the public health importance of identifying excess body fat. **Frontiers in public health**, v. 5, n. 1, p. 190, jul., 2017.

MANCINI, M. C. Obstáculos diagnósticos e desafios terapêuticos no paciente obeso. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 45, n. 6, p. 584 – 608, dez., 2001.

MARIATH, A. B. et al. Obesidade e fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis entre usuários de unidade de alimentação e nutrição. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 4, p. 897-905, abr., 2007.

MARIMAN, E. C. M.; WANG, P. Adipocyte extracellular matrix composition, dynamics and role in obesity. **Cellular and molecular life sciences**, v. 67, n. 8, p. 1277-1292, jan., 2010.

MARTINS, A. P. B. et al. Participação crescente de produtos ultraprocessados na dieta brasileira (1987-2009). **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 4, p. 656-665, ago., 2013.

MARTINS, L. B. et al. Paradoxical role of Tumor Necrosis Factor on metabolic dysfunction and adipose tissue expansion in mice. **Nutrition**, v. 114, n. p. 708-715, jul., 2017.

MATTARAIA, V. G. M.; MOURA, A. S. A. M. T. Produtividade de ratos Wistar em diferentes sistemas de acasalamento. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, ago., 2012.

NADERALI, E. K. et al. Diet-induced endothelial dysfunction in the rat is independent of the degree of increase in total bodyweight. **Clinical science**, v. 100, n. 6, p. 635-641, mar., 2001.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Carboidratos e Glicobiologia. In: _____. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. p. 243-263.

O'BRIEN, P. E.; DIXON, J. B. The extent of the problem of obesity. **The American Journal of Surgery**, v. 184, n. 6, p. S4-S8, dez., 2002.

OLIVEIRA, C. L. et al. Obesity and metabolic syndrome in infancy and adolescence. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 237-245, abr./jun., 2004.

OLIVEIRA, G. S. **Efeito de um modelo de dieta de cafeteria no crescimento e estado nutricional em ratos wistar**, 2017. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

PALOU, M. et al. Gene expression patterns in visceral and subcutaneous adipose depots in rats are linked to their morphologic features. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 24, n. 5-6, p. 547-556, nov., 2009.

PEREIRA, L. M. M.; VIANNA G. M. M.; LACERDA, C. A. Morfologia e Estereologia do Miocárdio em Ratos Hipertensos. Correlação com o Tempo de Inibição da Síntese do Óxido Nítrico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, n. 6, p. 397-402, jan., 1998.

PINTO JÚNIOR, D. A. C.; SERAPHIM, P. M. Cafeteria diet intake for fourteen weeks can cause obesity and insulin resistance in Wistar rats. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 3, p. 313-319, mai./jun., 2012.

QUEIROZ, K. B. et al. Endurance training blocks uncoupling protein 1 up-regulation in brown adipose tissue while increasing uncoupling protein 3 in the muscle tissue of rats fed with a high-sugar diet. **Nutrition research**, v. 32, n. 9, p. 709-717, set., 2012.

RIBEIRO, A. A. C. M.; DAVIS, C.; GABELLA, G. Estimate of size and total number of neurons in superior cervical ganglion of rat, capybara and horse. **Anatomy and embryology**, v. 208, n. 5, p. 367-380, ago., 2004.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. p. 33-75, São Paulo: Edgard Blücher, 2007.

SALVIANO, Bianca Damásio Pereira Dantas. **Análise morfológica e detecção de tnf- α em tecido adiposo visceral de ratos wistar com obesidade induzida por dieta**. 2017. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

SANTOS, A. B. et al. Critérios para escolha da amostra em experimentos com ratos wistar. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 1, n. 1, p. 121-129, jan., 2012.

SANTOS, J. H. **Dieta de cafeteria e seu impacto em parâmetros bioquímicos preditivos da síndrome metabólica em modelo experimental**. 2016. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SANTOS, J. P. S. de O. **Dieta de cafeteria: produção, composição nutricional e influência na glicemia de jejum em modelo animal**. 2016. 32f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SAPATA, K. B.; FAYH, A. P. T.; OLIVEIRA, A. R. Efeitos do consumo prévio de carboidratos sobre a resposta glicêmica e desempenho. **Revista Brasileira de Medicina e Esporte**, v. 12, n. 4, p. 189-94, abr., 2006.

SBARBATI, A. et al. Subcutaneous adipose tissue classification. **European journal of histochemistry: EJH**, v. 54, n. 4, p. 1-17, dez., 2010.

SICHERI, R. et al. Relationship between food intake and physical activity with body mass index in university employers. **Revista de Nutrição**, v. 11, n. 2, p. 185-195, dez., 1998.

SILVA, F. K. B. **Avaliação de uma dieta de cafeteria na alteração de fatores de risco cardiovascular em modelo experimental**. 2016. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SILVA, F. M. et al. Papel do índice glicêmico e da carga glicêmica na prevenção e no controle metabólico de pacientes com diabetes melitos tipo 2. **Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia**, v. 53, n. 5, p. 560-571, jul., 2009.

SINITSKAYA, N. et al. Increasing the fat-to-carbohydrate ratio in a high-fat diet prevents the development of obesity but not a prediabetic state in rats. **Clinical Science**, v. 113, n. 10, p. 417-425, nov., 2007.

SISVAN, Ministério da Saúde. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviço de saúde. **Brasil**, 1. ed, 2011.

Sociedade Brasileira de Diabetes, SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016)**. São Paulo: Copyright, 2016.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química orgânica**, v. 1, 9. ed., n. 9, p. 708, Rio de Janeiro: LCT, 2009.

SOUZA, W. C. et al. Índice de Adiposidade Corporal (IAC) como Preditor de Gordura Corporal: Um Estudo de Revisão. **Saúde Meio Ambiente**, v. 4, n. 1, p. 32-38, jan./jun., 2015.

SUGANAMI, T. et al. Attenuation of obesity-induced adipose tissue inflammation in C3H/HeJ mice carrying a Toll-like receptor 4 mutation. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 354, n. 1, p. 45-49, mar., 2007.

VALLE, M. et al. Metabolic cardiovascular syndrome in obese prepubertal children: the role of high fasting insulin levels. **Metabolism**, v. 51, n. 4, p. 423-428, abr., 2002.

VAN HARMELEN, V. et al. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. **Diabetes**, v. 47, n. 6, p. 913-917, jun., 1998.

VANZELA, E. C. et al. Pregnancy restores insulin secretion from pancreatic islets in cafeteria diet-induced obese rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 298, n. 2, p. R320-R328, fev., 2010.

WAJCHENBERG, B. L. Tecido adiposo como glândula endócrina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 1, p. 13-20, fev., 2000.

WALKER, G. E. et al. Deep subcutaneous adipose tissue: a distinct abdominal adipose depot. **Obesity**, v. 15, n. 8, p. 1933-1943, jan., 2007.

WHO, Expert Consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. **Lancet**, v. 363, n. 9403, p. 157, mar., 2004.

WILSON, C. R. et al. Western diet, but not high fat diet, causes derangements of fatty acid metabolism and contractile dysfunction in the heart of Wistar rats. **Biochemical Journal**, v. 406, n. 3, p. 457-467, set., 2007.

WRONSKA, A.; KMIEC, Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. **Acta Physiologica**, v. 205, n. 2, p. 194-208, jan., 2012.