



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**TAIS VARANDA**

**APETITE AO SÓDIO EM RATOS CONSUMIDORES DE  
SACAROSE**

**UBERLÂNDIA**

**2019**

TAIS VARANDA

APETITE AO SÓDIO EM RATOS CONSUMIDORES DE SACAROSE

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Antonio Vieira

UBERLÂNDIA

2019

“Apetite ao sódio em ratos consumidores de sacarose”

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, na Universidade Federal de Uberlândia, pela banca examinadora composta por:

Uberlândia, 03 de dezembro de 2019.

---

Prof. Dr. Alexandre Antonio Vieira

Docente do Departamento de Fisiologia  
Instituto de Ciências Biomédicas

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Coelho Balbi

Docente do Departamento de Fisiologia  
Instituto de Ciências Biomédicas

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Erika Renata Barbosa Neiro

Docente do Departamento de Fisiologia  
Instituto de Ciências Biomédicas

*Aos meus pais, Newton e Luciene.*

*Amo vocês.*

*Nada é pequeno se feito com amor.*

Santa Teresinha do Menino Jesus

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Jesus e Maria, por estarem sempre comigo, por me amarem tão imensamente, e por me fazerem crescer cada dia mais em graça e sabedoria. Ao meu Santo Anjo da Guarda, por cuidar de mim, conduzir meus caminhos, me orientar, proteger e amar.

Agradeço imensamente aos meus pais, Newton e Luciene, por todo o amor, carinho, cuidado, apoio, amparo e cumplicidade. Por cada ensinamento e palavra, e pelo exemplo de humildade e honestidade. Ao meu irmão Gabriel, por todo o companheirismo e amor, e especialmente por alegrar os meus dias.

Ao meu orientador querido, Prof. Alexandre Vieira, por ter acreditado em mim, me apoiado, e sempre me incentivado. Agradeço por toda a paciência e carinho que teve comigo, por ter me ajudado a crescer profissional e pessoalmente, e especialmente por ter sido sempre tão amável.

À minha melhor amiga da vida, Caroline, por todo o companheirismo, paciência, amor e cumplicidade. Agradeço por ter cuidado de mim sempre com muito zelo e carinho, e por me levar para mais perto de nosso amado Jesus.

Ao meu amigo Deivid, por sempre ter me ajudado e me amado, apesar de qualquer circunstância. Agradeço por sua amizade, paciência, e palavras amigas.

Às minhas amigas queridas: Lisandra, Ana Paula e Luciana, que sempre estiveram ao meu lado durante estes anos, e sempre foram carinhosas e amáveis, e me deram todo o suporte e amor de que precisei.

Ao Grupo de Oração Santo Inácio de Loyola que, durante muitos, anos foi meu principal suporte e apoio na graduação. Agradeço pela amizade de todos, e por terem me ensinado a crescer na fé e em sabedoria.



## RESUMO

A sacarose é um carboidrato altamente consumido, principalmente em alimentos industrializados. Seu consumo exagerado pode estar associado ao desenvolvimento da Síndrome Metabólica, e de doenças cardiovasculares, que por sua vez, também são conhecidas por terem relação direta com elevado consumo de sódio. O presente estudo objetivou verificar o apetite ao sódio em animais consumidores crônicos de sacarose, bem como parâmetros cardiovasculares, tais como: Pressão Arterial Sistólica (PAS) e Frequência Cardíaca (FC), após dois e quatro meses de tratamento. Os experimentos foram aprovados pelo Comitê da Ética na Utilização de Animais (registro 033/18) e os animais divididos em dois grupos: Controle (n = 5) - tratados com ração e água *ad libitum*, e Sacarose (n = 10) - tratados com ração e solução de sacarose 20 % em substituição à água, *ad libitum*, por um período de quatro meses após o desmame. Foram utilizados ratos *Wistar*, e o protocolo escolhido para indução do apetite ao sódio foi o de Privação Hídrica-Reidratação Parcial (SATO et al., 1996), que consiste em: privação hídrica por 24 horas, seguida de oferta de água por duas horas, seguida de oferta de NaCl 1.5 % concomitantemente com a água. Todos os valores de ingestão foram analisados. Ademais, após anestesia profunda com Tiopental Sódico (150 mg/kg), os tecidos adiposos epididimal e peri-renal foram coletados e pesados. Os resultados obtidos em ambos os períodos (dois e quatro meses) foram uma maior ingestão de NaCl 1.5 % pelos animais controle ( $14 \pm 1.5$  e  $14.4 \pm 2.5$  ml, respectivamente) quando comparados com os valores de ingestão nos grupos de animais consumidores de sacarose ( $6.3 \pm 1.8$  e  $7 \pm 1.4$  ml, respectivamente). Nos ratos consumidores de sacarose foi verificada elevação tanto da PAS ( $129 \pm 5.1$  mmHg vs controle:  $108 \pm 5.6$  mmHg) quanto da FC ( $431 \pm 15$  bpm vs controle:  $384 \pm 12$  bpm) porém, essas elevações apareceram apenas aos dois, e não aos quatro meses de tratamento. No final dos experimentos, foi observado acúmulo de tecido adiposo epididimal nos ratos do grupo Sacarose. Com base nos resultados obtidos até quatro meses, pode-se concluir que em ratos tratados cronicamente com sacarose 20 % ocorre diminuição permanente do apetite ao sódio e elevação apenas inicial da PAS e da FC.

Palavras-chave: Sacarose, Apetite ao sódio, Síndrome metabólica.



## ABSTRACT

Sucrose is a highly consumed carbohydrate, especially in processed foods. Its excessive consumption may be associated with the development of Metabolic Syndrome and cardiovascular diseases, which are also known to be directly related to high sodium intake. The present study was aimed to verify the sodium appetite in animals with chronic sucrose consumption, as well as cardiovascular parameters, such as: systolic blood pressure (SBP) and heart rate (HR), after two and four months of treatment. The experiments were approved by the Animal Care and Use Committee (approval no. 033/18), and *Wistar* rats were divided into two groups: Control (n = 5) – whose diet consisted of both water and commercial food for rodents, *ad libitum*, and Sucrose Group (n = 10), which was treated with both commercial food for rodents and 20 % sucrose solution rather than water, *ad libitum*, during four months. The chosen protocol to induce sodium appetite was Water Deprivation-Partial Repletion (SATO et al., 1996), which consists of: water deprivation for 24 hours, followed by the offer of water for two hours, followed by the offer of NaCl 1.5 % concomitantly with water. All intake values were analyzed. In addition, after deep anesthesia with Thiopental Sodium (150 mg/kg), epididymal and perirenal adipose tissues were collected and weighed. The results obtained in both periods (two and four months) were a higher 1.5 % NaCl intake by the Control group ( $14 \pm 1.5$  and  $14.4 \pm 2.5$  ml, respectively), when compared with the intake values in the Sucrose group ( $6.3 \pm 1.8$  and  $7 \pm 1.4$  ml, respectively). In sucrose group rats, both SBP ( $129 \pm 5.1$  mmHg vs control:  $108 \pm 5.6$  mmHg) and HR ( $431 \pm 15$  bpm vs control:  $384 \pm 12$  bpm) were elevated, but these elevations appeared only at two months, and not at four months of treatment. In the end of the experiments, epididymal adipose tissue accumulation was observed in Sucrose group. Based on the results obtained, it is possible to conclude that in rats chronically treated with sucrose 20 %, there is a permanent decrease in sodium appetite and acute rise in SBP and HR.

Keywords: Sucrose, Sodium appetite, Metabolic syndrome.

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....  | 1  |
| 2 OBJETIVOS.....   | 3  |
| 3 METODOLOGIA.....   | 3  |
| 3.1 Animais.....   | 3  |
| 3.2 Registro da Ingestão Basal .....                         | 4  |
| 3.3 Teste do Apetite ao Sódio.....                           | 4  |
| 3.4 Aferição da Pressão Sistólica e Frequência Cardíaca..... | 5  |
| 3.5 Eutanásia e Remoção de Órgãos .....                      | 5  |
| 3.6 Protocolo em Linha .....                                 | 6  |
| 3.7 Preparo dos Resultados e Análises Estatísticas .....     | 6  |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                               | 6  |
| 4.1 Gaiola Metabólica.....                                   | 6  |
| 4.1.1 Média da Ingestão Diária de Ração .....                | 7  |
| 4.1.2 Média da Ingestão Diária de Líquido .....              | 7  |
| 4.1.3. Média da Excreção Diária de Urina .....               | 8  |
| 4.2 Teste do Apetite ao Sódio.....                           | 8  |
| 4.3 Pressão Arterial Sistólica e Frequência Cardíaca.....    | 10 |
| 5 EUTANÁSIA .....  | 11 |
| 6 CONCLUSÃO.....   | 13 |
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                           | 14 |
| ANEXO I.....   | 18 |
| ANEXO II .....   | 19 |



## 1. INTRODUÇÃO

O estilo de vida que vem sendo adotado nos últimos anos pela população mundial consiste em uma dieta rica em alimentos industrializados, os quais possuem elevado teor de sódio, gorduras e açúcares (DUFFEY e POPKIN, 2007; WHO, 2015). A sacarose, popularmente conhecida como açúcar de mesa, é um carboidrato de elevado índice glicêmico, que está presente em grande quantidade nestes alimentos, e consequentemente, cada vez mais na dieta da população (ATKINSON et al., 2008). De acordo com PANCHAL e BROWN (2011), animais expostos a dietas com alto teor de sacarose podem ser considerados como um modelo para o desenvolvimento de doenças presentes na síndrome metabólica (SM).

Segundo a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (2005), a SM é caracterizada pela presença de pelo ao menos três das seguintes patologias no organismo: dislipidemia, obesidade visceral, hipertensão, hiperglicemia, diabetes, triglicerídeos elevados. Sendo que, todas estas alterações fisiológicas estão fortemente relacionadas com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, principalmente com a hipertensão (ISOMAA et al., 2001).

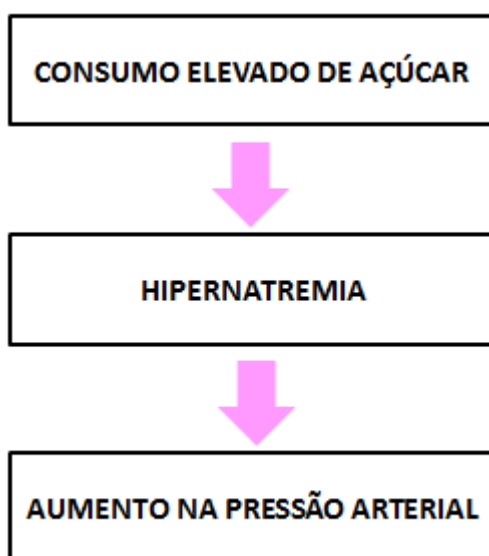
A hipertensão pode ser considerada um importante problema de saúde pública, pois afeta cerca de 33 % da população, e pode ser responsável por acarretar outras doenças que podem levar o indivíduo a óbito, tais como: acidente vascular encefálico, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica e doença renal crônica (LEVENSON et al., 2002; KEARNEY et al., 2005).

Estudos de DEFRONZO e cols. (1975, 1976) demonstram que uma dieta crônica com açúcar pode ser responsável por elevar a presença de insulina na circulação sanguínea, que por sua vez, pode facilitar mecanismos renais de reabsorção de sódio, resultando em um quadro de hipernatremia no organismo, que pode ser responsável por causar hipertensão. Outros estudos demonstram que a insulina possui ação vasodilatadora (STEINBERG et al., 1994), no entanto, quando em excesso, pode gerar no organismo uma resistência à insulina, perdendo seu efeito vasodilatador (TOOKE e HANNEMANN, 2000), mas mantendo o efeito de reabsorção renal de sódio (KURODA et al., 1999), o que seria um agravante para o aumento nas respostas hipertensivas.

De acordo com VON DIEMEN e cols. (2006), o consumo elevado de açúcares pode resultar no acúmulo de gordura abdominal. Alguns estudos demonstram que o excesso de gordura visceral, pode ser um agravante para o aumento da pressão arterial. Pois, a gordura em excesso na região abdominal inicia um processo de lipólise exacerbado, liberando grande quantidade de ácidos graxos livres na circulação sanguínea, que podem ser responsáveis por induzir inflamação (TRIPATHY et al., 2003; COELHO et al., 2010), além de causar resistência à insulina periféricamente, aumentando a glicemia, que pode estimular a retenção de sódio e água (FERRANNINI et al., 1987; KURODA et al., 1999), e ativar o sistema nervoso simpático (ANDERSON et al., 1991; TONEY e STOCKER, 2010; SIMMONDS et al., 2014), aumentando a pressão arterial.

Ademais, estudos de FAKHRUDDIN e cols. (2017) demonstram que a presença de hiperglicemia no organismo pode resultar em maior ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (S-RAA), que possui um papel importante na regulação de respostas pressóricas. Como resultado desta ativação ocorre a formação de angiotensina II (Ang II), que possui a função de regular a secreção de aldosterona, um hormônio que atua nos rins, aumentando a reabsorção de sódio, gerando hipernatremia. Além disso, a Ang II induz a liberação do hormônio anti-diurético (ADH), que é responsável por gerar vasoconstrição e aumentar a reabsorção de água (AIRES et al., 2018). A figura 01 representa um esquema simples sobre o efeito do açúcar produzindo hipernatremia e hipertensão.

Figura 01 - Hipótese da participação do sódio no aumento da pressão arterial.



Entretanto, ainda é necessário responder se animais consumidores de sacarose podem também desenvolver algum direcionamento para ingerir sódio. A hipótese deste estudo é a de que processos hipertensivos podem ser potencializados pela ingestão de sódio, em situações em que o animal possui algumas características da SM. Se esta hipótese for confirmada, estaremos diante de um grave cenário, em que o aumento da ingestão de açúcar associada à ingestão de sódio pode comprometer a homeostase do organismo, colocando-o em risco potencial para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como hipertensão.

## 2. OBJETIVOS

O presente estudo objetivou estudar o apetite ao sódio em ratos consumidores crônicos de sacarose 20 %, e verificar o valor da pressão arterial sistólica (PAS) e da frequência cardíaca (FC) nestes mesmos animais.

## 3. METODOLOGIA

### 3.1. Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* com peso inicial de aproximadamente 90 gramas (pós-desmame), fornecidos pela Rede de Biotério de Roedores da UFU (REBIR-UFU), os quais foram alojados em grupos de cinco, em caixas isoladoras da marca Ventilife, com dimensões de 40,3 cm de comprimento, 33,7 cm de largura e 21,4 cm de altura, em uma sala de experimentação dentro da própria REBIR-UFU, com temperatura controlada de aproximadamente 22°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ), umidade relativa média de 50-60 %, em um ciclo claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram divididos em dois grupos, a saber:

- **Grupo Controle:** composto por cinco animais, os quais tiveram livre acesso a bebedouros com água potável e filtrada. Este grupo não teve acesso à solução de sacarose 20 % em nenhum momento.

- **Grupo Sacarose:** composto por 10 animais, os quais tiveram livre acesso apenas a bebedouros com solução de sacarose 20 %. Estes animais não tiveram acesso a bebedouros que continham água.

Em ambos os grupos, os animais tiveram livre acesso à ração comercial para roedores. Os animais foram tratados desta maneira por quatro meses contados a partir do desmame.

Todos os protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais UFU (CEUA 033/18).

### **3.2. Registro da Ingestão Basal**

Após os dois meses de tratamento, os animais foram transferidos das caixas de criação para gaiolas metabólicas, onde foram alojados individualmente por um período de cinco dias, para medida da ingestão basal de líquido e ração, bem como do volume de excreção urinária. Durante este período, o fornecimento de líquido e ração continuou sem sofrer alterações.

### **3.3. Teste do Apetite ao Sódio**

Para a realização deste teste, foi aplicado o protocolo de Privação Hídrica-Reidratação Parcial (PHRP), descrito na literatura por SATO e cols. (1996), conhecido por causar no animal um apetite ao sódio dependente Ang II.

O teste foi realizado em dois momentos: o primeiro após dois meses de tratamento, e o segundo após quatro meses. Desta maneira, foi possível observar se com o passar da idade o animal exibiu algum tipo de mudança nas respostas fisiológicas.

Para a realização do teste, os animais foram realocados em caixas da marca Ventilife (dimensões de 40,3 cm de comprimento, 33,7 cm de largura e 21,4 cm de altura) com apenas um animal por caixa, o que possibilitou aferir a ingestão de líquido realizada por cada rato individualmente.

O teste consistiu nas seguintes etapas: primeiro, por um período de 24 horas, os animais foram privados de água, mas houve disponibilidade de ração *ad libitum* para os mesmos. Passadas as 24 horas, a ração foi removida, e foi ofertado aos animais uma bureta (previamente pesada) com água, por duas horas. Após este período, novamente a bureta foi pesada, para a verificação do peso final da mesma, sendo que a diferença entre os pesos inicial e final foi considerada como o valor ingerido.

Imediatamente, foi ofertado para os animais uma bureta graduada com água e outra com solução de NaCl 1.5 %. As medidas de ingestão de água e NaCl 1.5 % foram feitas após 30, 60 e 120 minutos.

Após a aplicação do presente teste, os animais foram devolvidos para suas caixas de criação, na qual o grupo Controle continuou tendo livre acesso apenas à água, e o grupo Sacarose continuou tendo acesso apenas à solução de sacarose 20 %. Ambos os grupos tiveram alimentação *ad libitum* com ração comercial para roedores, que foi ofertada novamente após a realização do teste.

### **3.4. Aferição da Pressão Sistólica e Frequência Cardíaca**

Este procedimento foi realizado para que fosse possível identificar prováveis diferenças na PAS do grupo controle e do grupo de ratos consumidores de sacarose 20 %. A aferição da PAS foi realizada em dois momentos: após dois e quatro meses de tratamento, sendo aplicada uma semana após a realização do Teste do Apetite ao Sódio (item 3.3).

O método utilizado foi o de pletismografia de cauda. Neste protocolo, os animais foram imobilizados em um contensor de acrílico específico para ratos *Wistar*. Para que o animal não se movimente, e o sinal da pressão apareça com clareza, é preciso utilizar deste método. Suas caudas foram aquecidas sob luz incandescente por cinco minutos, levando a uma dilatação da artéria caudal. Com isso, foi inserido na cauda dos animais um pletismógrafo, que é um aparelho que se assemelha ao esfigmomanômetro que é utilizado em humanos em seu mecanismo de funcionamento. Foram realizadas três aferições sucessivas para cada animal, e o valor da PAS de cada animal foi considerado como sendo a média aritmética das três aferições. A FC foi quantificada através do selecionamento de um período de 10 segundos de registro basal.

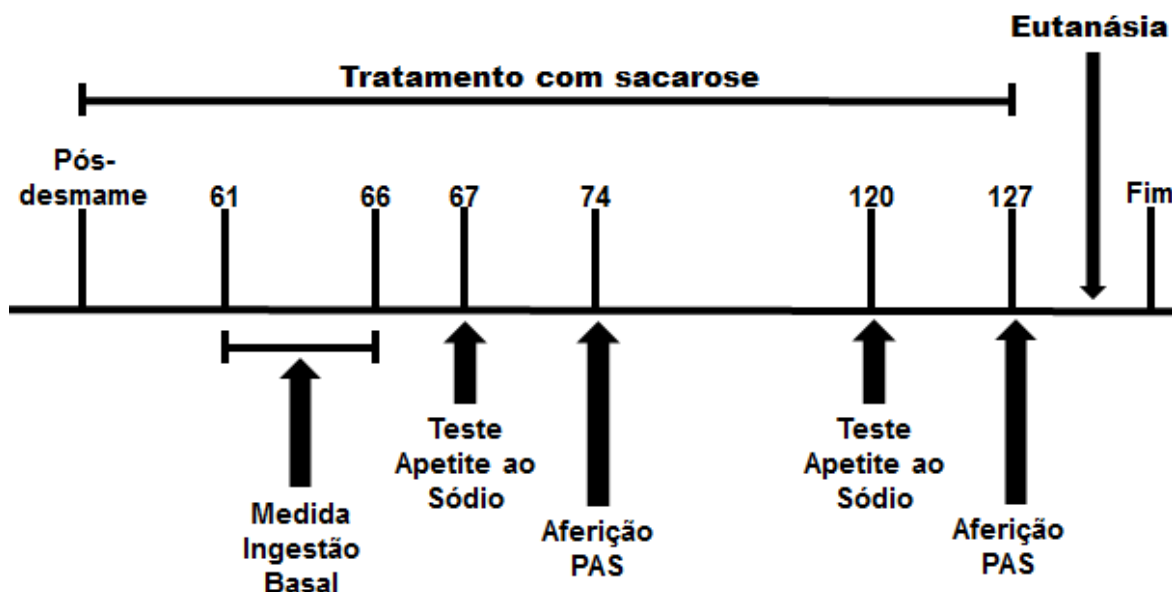
### **3.5. Eutanásia e Remoção de Órgãos**

No final dos experimentos, a glicemia dos animais foi verificada utilizando uma fita da marca Johnson & Johnson. Os ratos foram profundamente anestesiados com tiopental sódico (150 mg/kg). Imediatamente após a parada cardiorrespiratória, foram coletados os seguintes órgãos para pesagem: coração, rins, fígado, e os tecidos adiposos peri-renal e epididimal. Também foi calculado o índice de Lee, que possibilitou a identificação ou não de obesidade, com base no peso e no comprimento naso-anal dos animais.



### 3.6. Protocolo em Linha

Figura 02: Protocolo em linha.



### 3.7. Preparo dos Resultados e Análises Estatísticas

Os resultados foram tabelados em planilhas do Excel. A média e o erro padrão da média foram representados em gráficos usando-se o programa Sigma-Plot. Foram utilizados a análise de variância e o teste de Newman Keuls para as comparações entre os diferentes tratamentos. Diferenças foram consideradas significantes para  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Gaiola Metabólica

Os animais foram colocados nas gaiolas metabólicas após dois meses de tratamento (figura 02: protocolo em linha). A tabela 01 representa a medida da ingestão basal de ração e líquido (água ou sacarose), bem como do volume de urina excretado.

Tabela 01: Média diária da ingestão de ração e líquido, e do volume de excreção urinária.

| MÉDIA DIÁRIA |                |              |               |
|--------------|----------------|--------------|---------------|
| GRUPO        | RAÇÃO (g)      | LÍQUIDO (ml) | URINA (ml)    |
| CONTROLE     | 20,776 ± 0,6   | 39 ± 1,98    | 23 ± 1,61     |
| SACAROSE     | 9,052 ± 0,29 * | 48,1 ± 3,6   | 28,778 ± 2,13 |

\* = Diferente do grupo Controle ( $p < 0,001$ ).

#### 4.1.1.Média da Ingestão Diária de Ração

É possível observar na tabela 01 que houve uma redução na ingestão de ração comercial para roedores pelos animais do grupo Sacarose, quando comparados aos animais do grupo Controle. Estes dados foram coletados após dois meses de tratamento, entretanto, a ingestão diminuída continuou no decorrer do tempo de experimento, que terminou após quatro meses de tratamento. Já foi demonstrado na literatura por BUÑAG e cols. (1983), que animais alimentados com sacarose apresentam ingestão de ração diminuída, o que pode ser um indicativo de interferência em mecanismos controladores da fome e da saciedade neste grupo, em relação ao grupo Controle. É possível que a sacarose tenha causado vício nestes animais, promovendo desinteresse pela ração. Além disso, os ratos utilizados no experimento podem ser considerados sedentários, e por isso, o consumo excessivo de açúcar pode ter gerado acúmulo de reservas energéticas, sendo este um fator contribuinte para a menor procura pela ração. Ao final dos experimentos, foi possível verificar aumento de tecido adiposo nos animais do grupo Sacarose, o que pode ter sido responsável por acionar mecanismos hormonais anorexígenos, tal como a leptina, que também atua retardando o esvaziamento gástrico (MARTINEZ, 1999). Todos estes fatores somados podem ter contribuído para a diminuição da fome nos animais tratados com Sacarose.

#### 4.1.2.Média da Ingestão Diária de Líquido

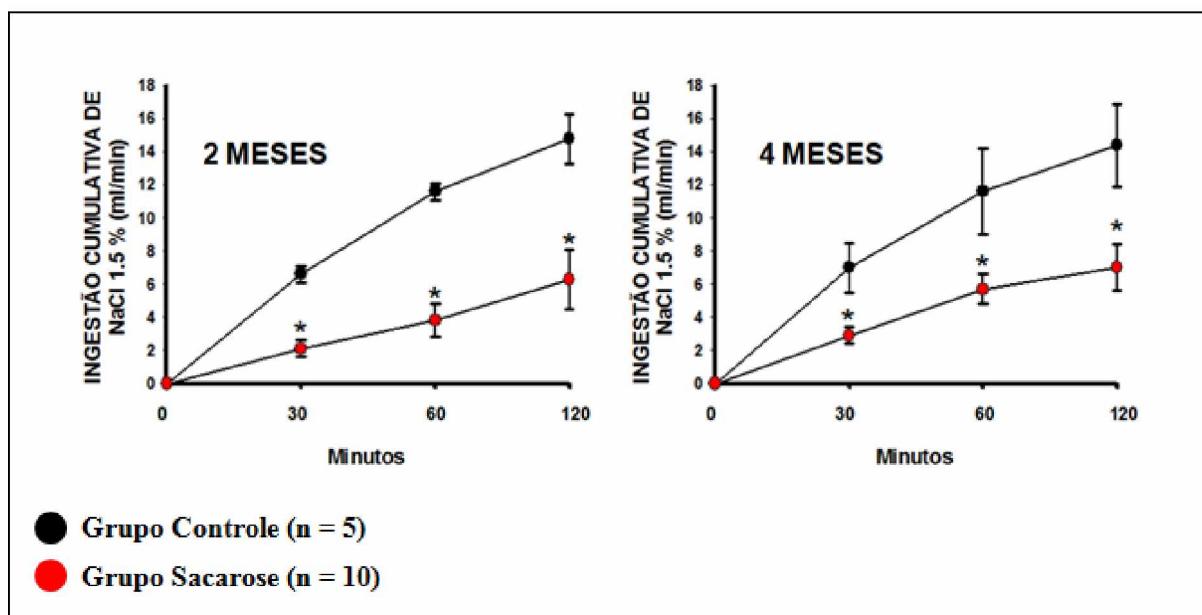
Na tabela 01 é possível observar que não houve diferença ( $p = 0,058$ ) na ingestão de líquido entre os grupos. Uma possível explicação é a de que a palatabilidade dos animais com sacarose já estava adaptada ao sabor doce após dois meses de tratamento.

### 4.1.3. Média da Excreção Diária de Urina

Não houve diferença ( $p = 0,063$ ) no volume de excreção urinária. Alguns estudos demonstram que o aumento da insulina plasmática provoca aumento na reabsorção renal de sódio (DEFRONZO et al., 1975, 1976; FERRANNINI et al., 1987; CORRY & TUCK, 1999; KURODA et al., 1999), o que pode facilitar a reabsorção de água por mecanismos osmóticos. Os níveis de insulina plasmática não foram quantificados nos experimentos, entretanto, é possível sugerir que estava elevada, devido ao consumo de açúcares (AIRES, 2018).

### 4.2. Teste do Apetite ao Sódio

Gráfico 01 – Teste do Apetite ao Sódio após 2 e 4 meses de tratamento.



\* = Diferente do grupo controle ( $p < 0,001$ ).

O gráfico 01 representa a ingestão cumulativa de NaCl 1.5% dos ratos do grupo Controle (círculos pretos), e dos ratos do grupo Sacarose (círculos vermelhos). O protocolo utilizado foi o de PHRP, sendo o teste realizado em dois momentos: após dois e quatro meses de tratamento. A privação hídrica produz no organismo uma situação de hipovolemia, aumentando a osmolaridade, o sódio plasmático, e a atividade da renina plasmática. Após a reidratação parcial, a osmolaridade é corrigida, e o volume é corrigido apenas parcialmente, sendo mantida alta a atividade da renina plasmática (DE

LUCA et al., 2002). No momento da realização do teste, estão presentes no organismo sinais indutores do apetite ao sódio, tais como hipovolemia e Ang II aumentada (JOHNSON e THUNHORST, 1997; DE LUCA et al., 2002).

É possível observar que nas duas vezes em que o teste foi aplicado, após 24 horas de privação hídrica, os animais apresentaram apetite ao sódio dependente de Ang II (SATO et al., 1996). Entretanto, os animais tratados com sacarose não apresentaram apetite ao sódio com a mesma intensidade que os animais do grupo Controle (gráfico 01:  $p < 0,001$ ). Importante, ambos os grupos beberam água durante a reidratação parcial, sendo observada apenas aos dois meses uma diminuição da ingestão nos ratos pertencentes ao grupo Sacarose (tabela 02).

Tabela 02 – Média da ingestão de água durante o período de duas horas de reidratação parcial.

| <b>INGESTÃO DE ÁGUA DURANTE A REIDRATAÇÃO PARCIAL (ml/g)</b> |                |                |
|--|----------------|----------------|
| <b>GRUPO</b>   | <b>2 MESES</b> | <b>4 MESES</b> |
| <b>CONTROLE</b>  | 0,041          | 0,03           |
| <b>SACAROSE</b>  | 0,028 *        | 0,024          |

\* = Diferente do grupo Controle ( $p < 0,001$ ).

Uma possível explicação é a de que ratos consumidores de sacarose não possuem interesse por alimentos ou líquidos que não possuam sabor doce, e por isso, ingeriram menor quantidade de água aos dois meses. Entretanto, a média de volume ingerido por animal do grupo Sacarose foi de 10,55 ml de água em duas horas, sendo este um valor que pode ser considerado suficiente para ativar os mecanismos causadores de apetite ao sódio (VENDRAMINI, 2018).

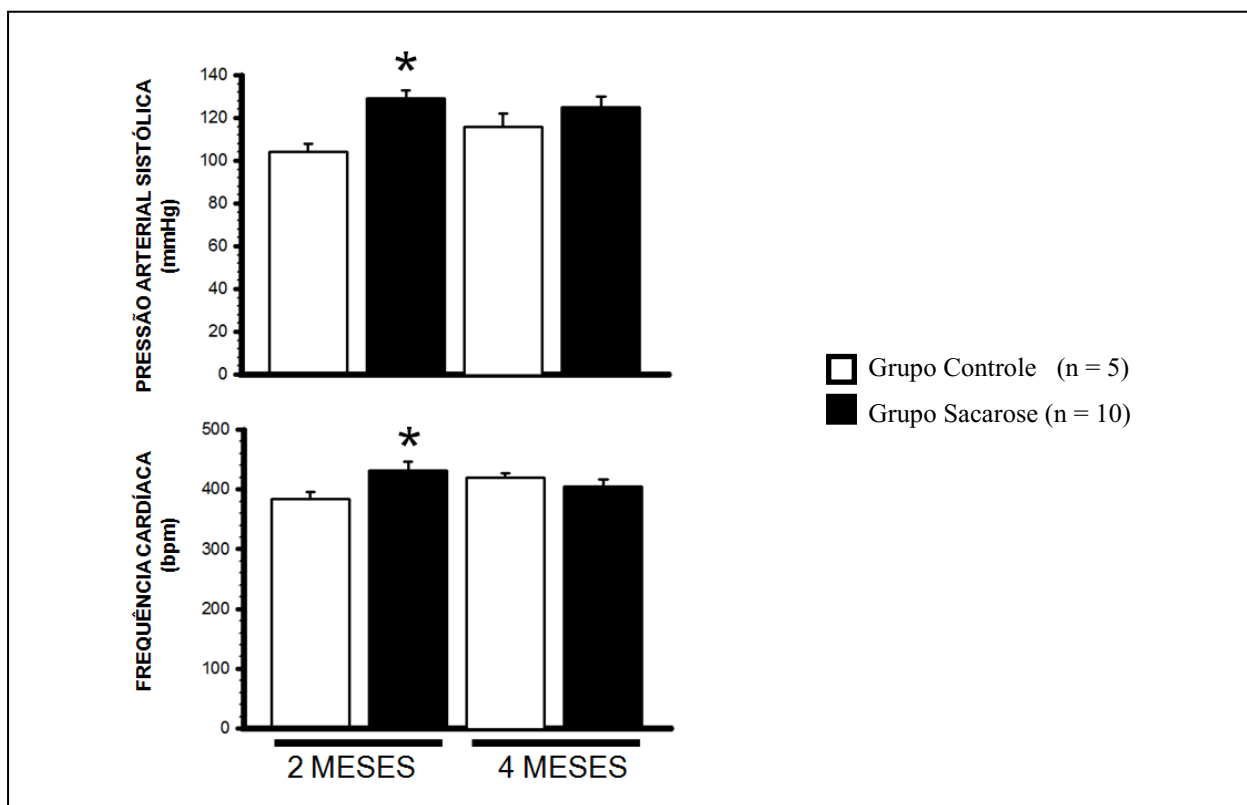
No sistema nervoso central (SNC) existem diferentes áreas responsáveis por controlar o apetite ao sódio (JOHNSON e THUNHORST, 1997). Na ponte, o Núcleo Parabraquial Lateral (NPBL) realiza controle inibitório para a ingestão de sódio (MENANI et al., 1996) através de diversos mecanismos, tais como: serotoninérgicos, glutamatérgicos e colicistocinérgicos. Uma hipótese que pode explicar o apetite ao sódio reduzido nos animais consumidores de sacarose, é a de que estes mecanismos poderiam estar potencializados nestes animais. Além disso, mecanismos facilitadores da ingestão de sódio podem ter sido inibidos no NPBL, tal como o mecanismo dependente de ativação de neurônios  $\alpha 2$ -adrenérgicos (ANDRADE et al., 2014).

Outra região encefálica importante para o comportamento de apetite ao sódio é o núcleo central da amígdala, que ativa a busca pelo sódio (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2015). O consumo crônico de sacarose poderia causar nos animais uma inibição da atividade desta região. Assim sendo, a Ang II não causaria mesma intensidade de efeitos nos diferentes grupos, sendo este efeito menor no grupo Sacarose.

Outra sugestão para explicar esta alteração se baseia no mecanismo colinérgico central, que poderia estar aumentado nestes animais, devido ao aumento na osmolaridade plasmática causada pelo consumo de açúcar. Pois, sabe-se que o consumo de açúcares aumenta a liberação de insulina, que pode ser responsável por potencializar a reabsorção renal de sódio, fato este que também pode ser uma possível explicação para a diminuição pela procura de sódio (FERRANNINI et al., 1987; CORRY & TUCK, 1999; KURODA et al., 1999), além de explicar, também, o motivo pelo qual estes animais obtiveram também menor procura pela ração, já que este é um hormônio anorexígeno (SCHWARTZ, 2000; HALPERN et al., 2004).

#### 4.3. Pressão Arterial Sistólica e Frequência Cardíaca

Gráfico 02 – Valores de pressão arterial sistólica e de frequência cardíaca após dois e quatro meses de tratamento.



\* = Diferente do grupo controle ( $p < 0,05$ ).

O gráfico 02 representa os resultados da aferição da pressão arterial sistólica (PAS) e da frequência cardíaca (FC), realizadas após dois e quatro meses de tratamento (protocolo em linha: figura 02). Após dois meses, ocorreu aumento tanto da PAS, quanto da FC nos ratos tratados com sacarose, que pode ter acontecido devido à elevação da atividade simpática, conforme sugerido em estudos de BUÑAG e cols. (1982). Esta elevação, por sua vez, pode ter sido induzida por diferentes mecanismos neuro-humorais, como por exemplo, uma potencial ação da insulina e/ou leptina em áreas centrais envolvidas no controle da atividade simpática (BARDGETT et al., 2010; DAMPNEY, R.A., 2011; ZHENG et al., 2017). Particularmente no caso da insulina, destaca-se a sua interação com o glutamato na área rostro ventrolateral do bulbo (RVL) (BARDGETT et al., 2010). Uma sugestão é a de que a ingestão crônica de sacarose poderia elevar mecanismos glutamatérgicos nesta região, que está envolvida com a geração e manutenção do tônus vasomotor simpático (GUYENET, P.G., 2006). Tal elevação poderia atuar, também, em áreas como o NPBL, causando inibição do apetite ao sódio (DE GOBBI et al., 2009). Contudo, se faz necessária a realização de mais estudos para a compreensão da associação existente entre açúcar e sal na geração de processos hipertensivos.

## 5. EUTANÁSIA

A tabela 03 representa os resultados obtidos no presente estudo.

Tabela 03: Peso corporal e dos tecidos adiposos epididimal e peri-renal, e índice de Lee.

| PESAGEM (g) |               |                            |                            |                   |
|-------------|---------------|----------------------------|----------------------------|-------------------|
| GRUPO       | PESO CORPORAL | TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL | TECIDO ADIPOSEO PERI-RENAL | ÍNDICE DE LEE     |
| CONTROLE    | 402,9 ± 40,4  | 5,2 ± 0,8                  | 0,6 ± 0,1                  | 31,98608896177280 |
| SACAROSE    | 456,3 ± 56,6  | 11,8 ± 3,5 *               | 1,4 ± 0,6                  | 32,16879450567410 |

\* = Diferente do grupo Controle (P = 0,01).

A obesidade e a SM podem ser induzidas experimentalmente através de manipulações neurais e hormonais, bem como através de alterações na dieta ou na genética dos animais (VON DIEMEN et al., 2006). A escolha do tratamento com

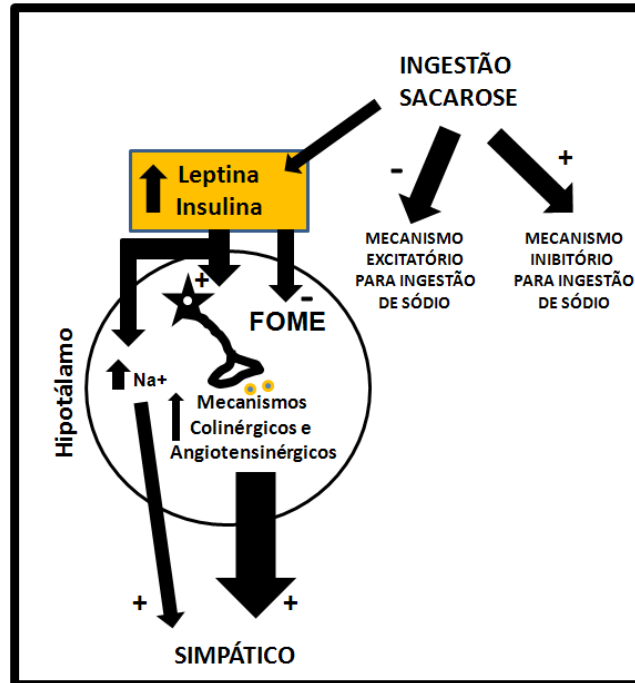
sacarose se baseou em dados presentes na literatura corrente (MALAFAIA et al., 2013), e também em resultados de estudos prévios de nosso laboratório, que utilizaram tratamento crônico com sacarose ou frutose, e que promoveram nos animais características de SM, bem como aumento de tecido adiposo. Entretanto, no presente estudo, não houve diferença entre o peso corporal final dos animais. Na literatura, este ainda é um dado conflitante, pois existem trabalhos que mostram tanto aumento (MALAFAIA et al., 2013) quanto diminuição de peso corporal (BUÑAG et al., 1983).

Não houve diferença nos valores relativos do índice de Lee. No entanto, houve aumento de tecido adiposo epididimal nos animais do grupo Sacarose. Este aumento pode ter colaborado para menor ingestão de ração, através da liberação de leptina, que é um hormônio anorexígeno.

No final dos experimentos a glicemia foi medida, e não houve diferença ( $p = 0.429$ ) entre os grupos Controle (124 mg/dL) e o tratado com sacarose (130.1 mg/dL). Uma possível explicação para esse resultado foi a alta glicemia encontrada em dois ratos utilizados para o grupo controle, fato que aumentou o erro na estatística deste grupo, bem como o valor final da glicemia. Assim, quando foram comparados com os ratos do grupo Sacarose não houve diferença. Por outro lado, podemos considerar que durante a ingestão de sacarose, os mecanismos hepáticos de absorção da glicose poderiam estar elevados, mantendo a glicemia em valores próximos ao grupo controle. Também foi observado por pesagem, que fígados de ratos tratados com sacarose estavam mais pesados quando comparados com os dos ratos do grupo controle ( $p = 0,02$ ). Não houve diferença no peso de coração e rins.

A figura 03 representa a hipótese principal após a finalização dos experimentos.

Figura 03: Hipótese principal dos experimentos.



A ingestão crônica de sacarose pode ter aumentado tanto a insulina plasmática (via pâncreas), quanto a leptina (via tecido adiposo). A insulina e a leptina poderiam facilitar a atividade dos mecanismos colinérgicos e angiotensinérgicos centrais, colaborando para aumento na atividade simpática. Ao mesmo tempo, insulina e leptina poderiam inibir mecanismos de fome. Por fim, a ingestão crônica de sacarose poderia ativar mecanismos inibitórios do apetite ao sódio.

## 6. CONCLUSÃO

Os animais consumidores crônicos de sacarose apresentaram diminuição permanente no apetite ao sódio, quando comparados ao grupo Controle. Houve elevação apenas inicial da PAS e FC nestes animais. Mais estudos são necessários para um melhor entendimento destes mecanismos, que estão envolvidos com o apetite ao sódio e hipertensão.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.
- ANDERSON, E.A.; HOFFMAN, R.P.; BALON, T.W.; SINKEY, C.A.; MARK A.L. Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans. **Journal of Clinical Investigation**, v.87, n.6, p. 2246-52, 1991.
- ANDRADE, C.A.; ANDRADE-FRANZÉ, G.M.; DE PAULA, P.M.; DE LUCA, LA JR.; MENANI, J.V. Role of  $\alpha_2$ -adrenoceptors in the lateral parabrachial nucleus in the control of body fluid homeostasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.47, n.1, p.11-8, 2014.
- ANDRADE-FRANZÉ, G.M.; ANDRADE, C.A.; GASPARINI, S.; DE LUCA L.A JR.; DE PAULA, P.M.; COLOMBARI, D.S.; COLOMBARI, E.; MENANI, J.V. Importance of central nucleus of the amygdala on sodium intake caused by deactivation of lateral parabrachial nucleus. **Brain Research**, v.1625, p.238-245, 2015.
- ATKINSON, F.S.; FOSTER-POWELL, K.; BRAND-MILLER, J.C. International Tables of Glycemic Index and Glycemic Load Values. **Diabetes Care**, v.31, n.12, p. 2281–83, 2008.
- BARDGETT, M.E.; MCCARTHY, J.J.; STOCKER, S.D. Glutamatergic receptor activation in the rostral ventrolateral medulla mediates the sympathoexcitatory response to hyperinsulinemia. **Hypertension**, v.55, n.2, p.284-90, 2010.
- BUÑAG, R. D.; TOMITA, T.; SASAKI, S. Chronic Sucrose Ingestion Induces Mild Hypertension and Tachycardia in Rats. **Hypertension**, v.5, p.218-225, 1983.
- COELHO, M.S.; LOPES, K.L.; FREITAS, R.D.E.; DE OLIVEIRA-SALES, E.B.; BERGASMASCHI, C.T.; CAMPOS, R.R.; CASARINI, D.E.; CARMONA, A.K.; ARAÚJO, M.D.A.; HEIMANN, J.C.; DOLNIKOFF, M.S. High sucrose intake in rats is associated with increased ACE2 and angiotensin-(1-7) levels in the adipose tissue. **Regulatory Peptides**, v.162, n.1-3, p. 61-7, 2010.
- CORRY, D.B.; TUCK, M.L. Obesity, hypertension, and sympathetic nervous system activity. **Current Hypertension Reports**, v.1, p.119-126, 1999.
- DAMPNEY, R.A. “Arcuate nucleus – a gateway for insulin’s action on sympathetic activity”. **The Journal of Physiology**, v.589, n.9, p.2109-2110, 2011.
- DE GOBBI, J.I.; BELTZ, T.G.; JOHNSON, R.F.; MENANI, J.V.; THUNHORST, R.L.; JOHNSON, A.K. Non-NMDA receptors in the lateral parabrachial nucleus modulate sodium appetite. **Brain Research**, v.1301, p.44-51, 2009.
- DE LUCA JR., LA.; XU, Z.; SCHOORLEMMER, G.H.M.; THUNHORST, R.L.; BELTZ, T.G.; MENANI, J.V.; JOHNSON, A.K. Brain immediate early gene

expression, humoral and cardiovascular antecedents of water deprivation-induced salt appetite in rats. **American Journal of Physiology**, v. 282, p. R552-R559, 2002

DEFRONZO, R.A.; COOKE, C.R.; ANDRES, R.; FALOONA, G.R.; DAVIS, P.J. The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man. **The Journal of Clinical Investigation**, v.55, n.4, p.845-855, 1975.

DEFRONZO, R.A.; GOLDBERG, M.; AGUS, Z.S The effects of glucose and insulin on renal electrolyte transport. **The Journal of Clinical Investigation**, v.58, n1, p.83-90, 1976.

DUFFEY, K.J.; POPKIN, B.M. Shifts in patterns and consumption of beverages between 1965 and 2002. **Obesity**, v.15, n.11, p.2739-47, 2007.

FAKHRUDDIN, S.; ALANAZI, W.A.; ALHAMAMI, H.N.; BRISKI, K.P.; JACKSON, K.E. Hyperglycemia induced by chronic i.p. and oral glucose loading leads to hypertension through increased Na<sup>+</sup> -retention in proximal tubule. **Experimental Physiology**, 2017.

FERRANNINI, E.; BUZZIGOLI, G.; BONADONNA, R.; GIORICO, M.A.; OLEGGINI, M.; GRAZIADEI, L.; PEDRINELLI, R.; BRANDI, L.; BEVILACQUA, S. Insulin resistance in essential hypertension. **The New England Journal of Medicine**, v.317, n.6, p. 350-7, 1987.

Guideline: Sugars intake for adults and children. Geneva: **World Health Organization**; 2015.

GUYENET, P.G. The sympathetic control of blood pressure. **Nature Reviews Neuroscience**, v.7, n.5, p.335-346, 2006.

HALPERN, Z.S.C.; DEL BOSCO RODRIGUES, M.; COSTA, R.F. Determinantes fisiológicos do controle do peso e apetite. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v.31, n.4, p.150-153, 2004.

ISOMAA, B.; ALMGREN, P.; TUOMI, T.; FORSÉN, B.; LAHTI, K.; NISSÉN, M.; TASKINEN, M.R.; GROOP, L. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. **Diabetes Care**, v.24, n.4, p. 683-9, 2001.

JOHNSON, A.K.; THUNHORST, R.L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.18, n.3, p. 292-353, 1997.

KEARNEY, PM.; WHELTON, M.; REYNOLDS, K.; MUNTNER, P.; WHELTON, P.K.; HE, J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **The Lancet**, v.365, n.9455, p.217-223, 2005.

KURODA, S.; UZU, T.; FUJII, T.; NISHIMURA, M.; NAKAMURA, S.; INENAGA, T.; KIMURA, G. Role of insulin resistance in the genesis of sodium sensitivity in essential hypertension. **Journal of Human Hypertension**, v.13, p. 257-62, 1999.

LEVENSON, J.W.; SKERRETT, P.J.; GAZIANO, J.M. Reducing the global burden of cardiovascular disease: the role of risk factors. **Preventive Cardiology**, v.5, n.4, p.188-199, 2002.

MALAFAIA, A.B.; NASSIF, P.A.N.; RIBAS, C.A.P.M.; ARIEDE, B.L.; SUE, K.N.; CRUZ, M.A. Indução de obesidade com sacarose em ratos. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v.26, n.S1, p.17-21, 2013.

MARTINEZ, V.; BARRACHINA, M.D.; WANG, L.; TACHE, Y. Intracerebroventricular leptin inhibits gastric emptying of a solid nutrient meal in rats, **Neuroreport**, v.10, n.15, p.3217–3221, 1999.

MENANI, J.V.; THUNHORST, R.L.; JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rats. **Am J Physiol.**, 270 (1 Pt 2):R162-8, 1996.

PANCHAL, S.K.; BROWN, L. Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 2011.

SATO, M.A.; YADA, M. M.; DE LUCA, JR. Antagonism of the Renin-Angiotensin System and Water Deprivation-Induced NaCl Intake in Rats. **Physiology & Behavior**, v.60, n.4, p.1099-1104, 1996.

SCHWARTZ, M.V. Staying slim with insulin in mind. **Science**, v.289, p.2066-7, 2000.

SIMMONDS, S.S.; LAY, J.; STOCKER, S.D. Dietary salt intake exaggerates sympathetic reflexes and increases blood pressure variability in normotensive rats. **Hypertension**, v.64, n.3, p.583-589, 2014.

STEINBERG, H.O.; BRECHTEL, G.; JOHNSON, A.; FINEBERG, N.; BARON, A.D. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. **Journal of Clinical Investigation**, v.94, p.1172–79, 1994.

TONEY, G.M.; STOCKER, S.D. Hyperosmotic activation of CNS sympathetic drive: implications for cardiovascular disease. **The Journal of Physiology**, v.588, Pt. 18, p.3375-3384, 2010.

TOOKE, J.E.; HANNEMANN, M.M. Adverse endothelial function and the insulin resistance syndrome. **Journal of Internal Medicine**, v.247, p.425–31, 2000.

TRIPATHY, D.; MOHANTY, P.; DHINDSA, S.; SYED, T.; GHANIM, H.; ALJADA, A.; DANDONA, P. Elevation of free fatty acids induces inflammation and impairs vascular reactivity in healthy subjects. **Diabetes**, v.52, n.12, p. 2882-7, 2003

VENDRAMINI, R.C. Influência do Núcleo Central da Amígdala na ingestão de sódio induzida por privação hídrica em ratos. Tese de doutorado, convênio UFSCar/UNESP, 2018.

VON DIEMEN, V.; TRINDADE, E. N.; TRINDADE, M. R. M. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.21, n.6, 2006.

ZHENG, H.; LIU, X.; LI, Y.; PATEL, K.P. A hypothalamic leptin-glutamate interaction in the regulation of sympathetic nerve activity. **Neural Plasticity**, v.2017, p.2361675, 2017.



Universidade Federal de Uberlândia

– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



## CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Apetite ao sódio em ratos consumidores de sacarose”, protocolo nº 033/18, sob a responsabilidade de **Alexandre Antônio Vieira** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADA pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião 22 de Junho de 2018.

(We certify that the project entitled “Apetite ao sódio em ratos consumidores de sacarose”, protocol 033/18, under the responsibility of Alexandre Antônio Vieira - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of June 22th, 2018).

|   |   |
|---|---|
| Vigência do Projeto                     | Início: 01/08/2018 Término: 01/08/2019  |
| Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos | Rato Wistar – Rato heterogênico   |
| Número de animais                       | 20  |
| Peso / Idade                            | 90 - 120g/60 dias   |
| Sexo                                    | Macho   |
| Origem / Local                          | Centro de Bioterismo e Experimentação Animal (CBEA) da Universidade Federal de Uberlândia |
| Local onde será mantido o animal:       | ARFIS - Área de Ciências Fisiológicas   |

Uberlândia, 27 de junho de 2018.

**Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro**  
**Girão**

Coordenador da CEUA/UFU

## ANEXO II



Universidade Federal de Uberlândia

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)

Rua Ceará, S/N - Bloco 2D, sala 02 – CEP 38405-315  
Campus Umuarama – Uberlândia/MG – Ramal (VoIP)  
3423; e-mail:ceua@propp.ufu.br;

[www.comissoes.propp.ufu.br](http://www.comissoes.propp.ufu.br)

### ANÁLISE FINAL Nº 104/18 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 033/18

**Projeto Pesquisa:** “Apetite ao sódio em ratos consumidores de sacarose”.

**Pesquisador Responsável:** Alexandre Antônio Vieira

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

Situação: PROTOCOLO DE PESQUISA **APROVADO**.

OBS: A CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 27 de junho de 2018.

**Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão**

Coordenador da  
CEUA/UFU Portaria nº  
665/17