

A dieta *ad libitum* versus a saúde de ratos Wistar

The ad libitum diet versus health of Wistar rats

Eliane Maria Zanchet^[a], Alessandra Bridi^[b], Letícia Petry^[c], Róli Rodrigues Simões^[d], Raqueli Terezinha França^[e],
Sônia Terezinha Lopes dos Anjos^[f]



doi: 10.7213/academica.7702 ISSN 0103-989X
Licenciado sob uma Licença Creative Commons

- ^[a] Doutora, professora associada I do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Centro Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil, e-mail: emzanchet@yahoo.com.br
- ^[b] Graduanda do Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS - Brasil, e-mail: alessandra.bridi@hotmail.com
- ^[c] Graduanda do Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS - Brasil, e-mail: leticiapetry_mv@yahoo.com.br
- ^[d] Mestre, doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS - Brasil, e-mail: rolisim@hotmail.com
- ^[e] Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS - Brasil, e-mail: raquelifranca@yahoo.com.br
- ^[f] Doutora, professora associada II do Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS - Brasil, e-mail: sonia@smail.ufsm.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi mostrar os efeitos da dieta *ad libitum* sobre a saúde dos animais de experimentação comparando-se os parâmetros bioquímicos em ratos alimentados com diferentes tipos de dieta e diferentes formas de alimentação. Três grupos de oito animais foram alimentados com ração padrão em quantidade controlada (30 g/dia)-grupo 1, ração padrão *ad libitum* - grupo 2 e o grupo 3 ração hipercalórica *ad libitum*. Amostras de sangue foram coletadas antes e depois do experimento, para análise dos seguintes parâmetros bioquímicos: colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triglicérides (TG) e glicemia (G). Os resultados mostraram que os grupos 2 e 3, que receberam dieta *ad libitum*, apresentaram níveis mais elevados de CT, HDL-c e TG. Este estudo mostrou que a dieta padrão *ad libitum* altera os parâmetros bioquímicos da mesma forma, que uma dieta hipercalórica, colocando em risco a saúde dos animais de experimentação.

Palavras-chave: Ratos. Dietas. *Ad libitum*. Parâmetros bioquímicos.

Abstract

The objective of this study was to show the effects of ad libitum diet on the health of experimental animals by comparing biochemical parameters in rats fed on different types of diets and forms of feeding. Three groups of eight animals were fed on: standard feed in controlled quantity (30g/day) - group 1, standard feed ad libitum, group 2 and group 3 - hypercaloric diet ad libitum. Blood samples were collected before and after the experiment for analysis of the following biochemical parameters: total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDL-C), triglycerides (TG) and glucose (G). Results showed that groups 2 and 3, which received ad libitum diet, had higher levels of TC, HDL-C and TG. Thus, this study shows that the standard diet ad libitum alters biochemical parameters in the same way that a hypercaloric diet, worsening the health status of experimental animals.

Keywords: Rats. Diets. Ad libitum. Biochemical parameters.

Introdução

Ratos e camundongos são animais utilizados como modelos para a realização de pesquisas biomédicas no mundo inteiro. Esses animais são mantidos em caixas e com vida sedentária e é comum a oferta de ração aos animais de forma *ad libitum*.

Ad libitum é uma expressão latina, que significa à vontade. Vários estudos mostram que a alimentação *ad libitum* em roedores diminui a longevidade e aumenta a incidência de doenças degenerativas e proliferativas dos rins, fígado, adrenal, hipófise e tireoide, aumenta a resistência à insulina e à ocorrência de tumores relacionados com a nutrição, obesidade, hipertensão, câncer, diabetes tipo 2 e falência renal. O consumo de ração *ad libitum* é uma das variáveis não controladas mais significantes que afeta os resultados de bioensaios com roedores (KEENAN, 1997; MASORO, 1991; WEINDRUCH, 1996).

Uma dieta equilibrada compreende carboidratos, proteínas, lipídios, sais minerais e vitaminas. As necessidades energéticas de um animal dependem de seu momento fisiológico, de sua atividade física e da temperatura ambiente. As quantidades médias necessárias de ração e água por rato (adulto) por dia são aproximadamente 10 a 30 g de ração e 20 a 50 mL de água (ANDRIGUETO, 1986; GUIMARÃES; MÁZARO, 2004).

Considerando que a grande maioria dos artigos científicos publicados descrevem na metodologia a administração de dieta *ad libitum*, o objetivo deste trabalho foi comparar parâmetros bioquímicos de animais alimentados durante sete semanas com ração padrão

em quantidades indicadas pela literatura, ração padrão *ad libitum* e ração hipercalórica *ad libitum*.

Materiais e métodos

Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, pesando entre 250 a 270 g, oriundos do biotério central da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais ficaram no Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia e foram mantidos em temperatura ambiente de 21-23 °C e ciclo claro-escuro de 12 h com luz a partir das 07h00min. O experimento foi realizado após a aprovação do Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFSM, parecer 55/2009. Os animais foram divididos em três grupos de oito tratados por sete semanas com diferentes dietas descritas a seguir:

- Grupo 1 - Ração padrão – quantidade controlada (30 g/dia/rato);
- Grupo 2 - Ração padrão – *ad libitum*;
- Grupo 3 - Ração hipercalórica – *ad libitum*.

O preparo da ração hipercalórica foi feito com associação de 20% de gordura de suíno à ração padrão (Ração comercial®). O preparo, o fornecimento e análise do consumo da ração era feito a cada dois dias. A dieta padrão era composta de 22% de proteína, 67,8% de carboidratos, 2,5% de lipídeos e 7,7% de fibra bruta, vitaminas e minerais, apresentando 3018 kcal/kg. A dieta hipercalórica era composta de 17,6% de proteína, 54,2% de carboidratos, 20,6% de lipídeos e 7,6% de fibra bruta, vitaminas e minerais com 4181 kcal/kg.

A coleta do sangue no primeiro e no último dia do experimento foi feita por punção cardíaca com os ratos anestesiados com halotano. Os parâmetros bioquímicos dosados foram colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triglicérides (TG) e glicemia (G). Os parâmetros foram medidos por meio de kits Labtest® com analisador semi-automático (*Thermo Plate*).

Análise estatística

Os dados obtidos antes e depois da oferta das dietas foram comparados de forma pareada pelo Teste t. A comparação entre os grupos (pós-dietas) foi feita mediante ANOVA de uma via seguido por Tukey com nível de significância de $P < 0,05$.

Resultados e discussão

Para se promover e manter a saúde, a dieta e a nutrição são fatores muito importantes, pois dietas calóricas e/ou ricas em gorduras causam sobrepeso e obesidade, associadas ao aumento da incidência de

outras doenças crônicas (PERICHAR, 2010). A resposta dos ratos Wistar às sete semanas de tratamento (dietas) foi influenciada pelos nutrientes, quantidade dos alimentos e consumo calórico, que foi em média de 25 g/75 kcal de ração no grupo padrão controlado, 33 g/106 kcal no grupo de ração padrão *ad libitum* e 21 g/89 kcal de ração por dia no grupo ração hipercalórica *ad libitum* (Tabela 1). Observa-se maior consumo calórico nos grupos 2 e 3, dietas *ad libitum*, que influenciou os resultados obtidos. Segundo Kennan (1996), são as condições de ingesta calórica, determinantes do peso corporal adulto, do início de doenças degenerativas e dos tumores, que definirão a longevidade dos animais. O menor consumo do grupo 3 pode ter sido causado pela alteração na palatabilidade da ração graças à adição de gordura suína.

A Tabela 2 mostra os valores dos parâmetros bioquímicos analisados pré e pós-dieta nos três diferentes grupos. No grupo alimentado com dieta padrão controlada (grupo 1), com exceção da glicemia, observa-se que houve diminuição nos valores dos demais parâmetros sanguíneos. Segundo Masoro (2007), a restrição de alimentos inicialmente não afeta características fisiológicas, mas lentifica

Tabela 1 - Quantidades de ração em g e kcal consumidas diariamente por ratos Wistar

	Ração padrão controlada (30 g)	Ração padrão <i>ad libitum</i>	Ração Hipercalórica <i>ad libitum</i>
Quantidade em g	25g ± 0,46	33g ± 4,47	21g ± 2,04
Quantidade em Kcal	75 kcal ^a	106 kcal ^b	89 kcal ^c

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Letras diferentes mostram diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

Tabela 2 - Valores dos parâmetros bioquímicos analisados pré-dietas e pós-dietas em ratos Wistar

	Ração padrão controlada (30 g)		Ração padrão <i>ad libitum</i> (AD)		Ração Hipercalórica <i>ad libitum</i>	
	Pré- dieta	Pós- dieta	Pré- dieta	Pós- dieta	Pré- dieta	Pós- dieta
CT (mg/dL)	57 ±9	55 ±8,8*	84 ±12	72 ±12	66 ±9	74 ±14**
HDL (mg/dL)	49±16	47 ±11**	47 ±13	59 ±10**	34 ±13	62 ±10**
TG (mg/dL)	98 ±31	81 ±28**	64 ± 21	113 ±40**	57 ±25	93 ±26**
G (mg/dL)	78 ±21	110 ± 41	150 ± 14	131 ±15*	138 ±15	123±17

Legenda: * = diferença significativa para $p < 0,05$ comparando-se o pré com o pós-dieta; ** = $p < 0,01$.

Fonte: Dados da pesquisa .

as mudanças associadas à idade, retardando o aumento sérico do colesterol em ratos. Convém ressaltar que nesse grupo não foi realizada restrição calórica, mas a ele foi ofertado a quantidade de ração indicada pela literatura, e mesmo assim, observou-se a redução dos níveis de CT, bem como HDL-c e TG, nas sete semanas de dieta. A redução pode ser explicada pelo fato de que estes animais passaram a ingerir um número menor de calorias e menor quantidade de componentes nutricionais envolvidos na formação de lipídios sanguíneos do que consumiam antes do experimento.

Por outro lado, os animais que receberam ração padrão *ad libitum* (grupo 2) apresentaram valores aumentados nos níveis de HDL-c e TG e redução dos valores da glicemia, aumentos estes, certamente relacionados ao elevado consumo de calorias (Tabela 1).

Os animais que foram alimentados com dieta hipercalórica *ad libitum* (grupo 3) também apresentaram aumento significativo em todos os valores bioquímicos, exceto glicose. O aumento desses parâmetros era esperado, uma vez que a dieta hipercalórica (20 % gordura suína adicionada à ração padrão) é rica em gordura saturada e influencia a concentração dos lipídios sanguíneos. Resultados semelhantes foram obtidos por Morais et al. (2003), os quais demonstraram que ratos Wistar alimentados com dieta hipercalórica durante oito semanas, exibiram níveis séricos de CT, TG e HDL-c mais altos do que o grupo controle. Hoefel et al. (2011) também mostraram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica por 16 semanas tiveram os níveis de CT e TG elevados.

Os gráficos apresentam a comparação entre as dietas das medidas dos parâmetros bioquímicos, após sete semanas. Na representação dos níveis de CT (Gráfico 1), quando se compara os três grupos, observa-se que somente o grupo 1, apresentou diminuição significativa de tal parâmetro bioquímico quando comparado com o grupo 2 e 3. Essa redução nos níveis de CT está relacionada com a menor ingestão calórica e quantidade de gordura ingerida, conforme mencionado anteriormente. O maior consumo calórico do grupo 2 e maior quantidade de gordura saturada ingerida pelos ratos do grupo 3 podem explicar os resultados obtidos (Gráfico 1).

Quando comparado o grupo 2 com o grupo 3, não se observou diferença significativa, em virtude do fato que a composição da dieta do grupo 3 é principalmente de gordura saturada (20%) e mesmo ingerindo

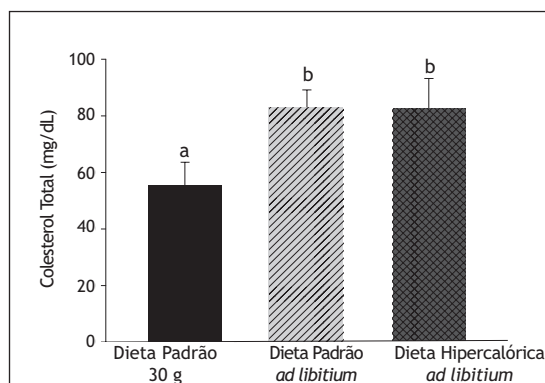


Gráfico 1 - Representação gráfica dos níveis de Colesterol total (mg/dL) após sete semanas de dieta padrão (controlada e *ad libitum*) e hipercalórica em ratos Wistar

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Letras diferentes mostram que houve diferença significativa ($p < 0,05$).

uma quantidade significativa menor de Kcal, apresentou níveis sanguíneos de colesterol total semelhantes. Estudos mostram que a dieta hipercalórica, quando consumida em quantidade excessiva interfere na elevação da taxa de colesterol sérico, consequente do excesso de ácidos graxos saturados, mais especificamente do ácido láurico, mirístico e palmítico, tidos como os três principais ácidos graxos causadores de hipercolesterolemia e promotores de aterosclerose (CHAMPE; HARVEY, 2000).

Ao se comparar o grupo 1 com o grupo 2 não houve diferença significativa referente aos níveis de HDL-c (Gráfico 2). Quando o grupo 1 foi comparado com o grupo 3 ocorreu diferença significativa, apresentando o grupo 3, níveis mais elevados de HDL-c. Apesar da dieta hipercalórica possuir maior quantidade de gordura saturada, os níveis de HDL aumentaram, quando comparados com o grupo padrão controlada. Resultados semelhantes foram obtidos por Morais et al. (2003), ao demonstrarem que a administração por oito semanas de dieta rica em gordura saturada (14%) aumenta os níveis de HDL-c, quando comparado com as demais dietas. A representação gráfica do aumento dos níveis de HDL-c nos grupos 2 e 3 quando comparados ao grupo 1 é semelhante ao gráfico que representa os níveis de CT (Gráfico 1), mostrando coerência nos resultados.

Os níveis de TG demonstram que não há diferença significativa entre o grupo 1 e 3. Quando estes

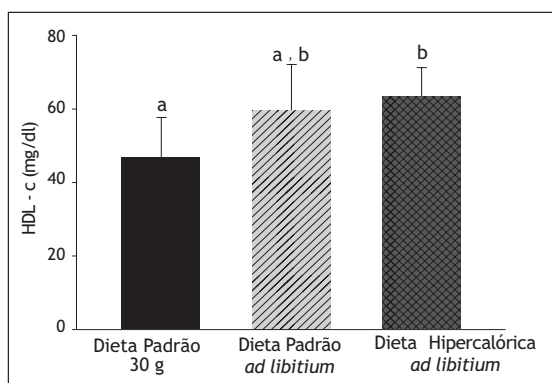


Gráfico 2 – Representação gráfica dos níveis de HDL-c (mg/dL) após sete semanas de dieta padrão (controlada e *ad libitum*) e hipercalórica em ratos Wistar

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Letras diferentes mostram diferença significativa ($p < 0,05$).

grupos são comparados com o grupo 2 observa-se diferença significativa (Gráfico 3). A maior ingestão (kcal) pode fundamentar a explicação para o aumento dos triglicérides nesse grupo. Embora se esperasse que houvesse um aumento significativo dos triglicérides no grupo 3, graças à grande quantidade de gordura saturada, isto não ocorreu, e a explicação pode estar na teoria de Champe e Harvey (2000), ao afirmarem que o tecido adiposo armazena 95% dos triglicérides do organismo,

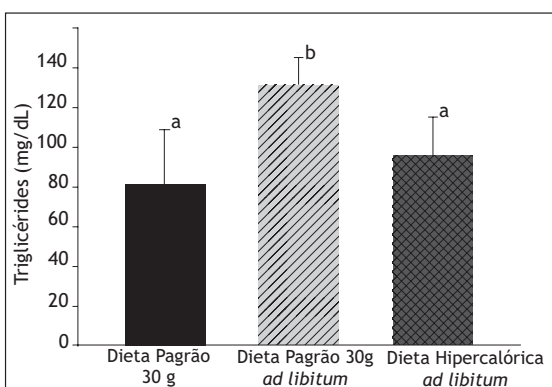


Gráfico 3 – Representação gráfica dos níveis de triglicérides (mg/dL) após sete semanas de dieta padrão (controlada e *ad libitum*) e hipercalórica em ratos Wistar

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Letras diferentes mostram que houve diferença significativa ($p < 0,05$).

não permitindo que os triglicérides sejam detectados no sangue.

Os níveis de glicemia não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Tabela 2). Resultado semelhante foi observado por Duarte (2006), em experimento com 15 semanas de duração, não havendo diferença significativa nos níveis de glicemia quando comparados com os animais alimentados com dieta hipercalórica e dieta padrão.

Conclusão

Os resultados mostraram que os animais alimentados com quantidades nutricionais controladas apresentam redução dos níveis séricos de parâmetros bioquímicos quando comparados com as dietas padrão *ad libitum* e hipercalórica *ad libitum*. Tais resultados devem ser reconsiderados ao se alimentar animais *ad libitum*, considerando a sua influência sobre a saúde dos animais de experimentação, o que garantirá resultados experimentais mais confiáveis.

Referências

- ANDRIGUETO, J. M. **Normas e padrões de nutrição animal**. Curitiba-Brasil: Nutrição editora e publicitária, 1986.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.
- DUARTE, A. C. G. O. et al. Dieta hiperlipídica e a capacidade secretória de insulina em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 341-348, 2006.
- GUIMARÃES, M. A.; MÁZARO, R. **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2004.
- HOEFEL, A. L. et al. The effects of hypercaloric diets on glucose homeostasis in the rat: influence of saturated and monounsaturated dietary lipids. **Cell Biochemistry and Function**, v. 29, n. 7, p. 569-576, 2011.
- KEENAN, K. P. et al. The effects of diet, overfeeding and moderate dietary restriction on Sprague-Dawley rat survival, disease, and toxicology. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 127, supl. 5, p. 851-856, 1997.

KEENAN, K. P. et al. The effects of diet, *ad libitum* overfeeding, and moderate dietary restriction on the rodent bioassay: the uncontrolled variable in safety assessment. **Toxicologic Pathology**, v. 24, n. 6, p. 757-768, 1996.

MASORO, E. J. et al. Retardation of the aging process in rats by food restriction. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 621, p. 337-352, 1991.

MASORO, E. The Role of hormesis in life extension by dietary restriction. In: MOBBS, C. V.; YEN, K.; HOF, P. R. (ed.): **Mechanisms of Dietary Restriction In Aging and Disease**. Interdiscipl Top Gerontol. Basel: Karger, 2007, p.1-17.

MORAIS, C. S. N. et al. Efeitos das fontes e níveis de lipídios nas dietas de ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) sobre frações lipídicas do sangue. **Ciências Agrotécnicas**, v. 27, n. 15, p. 1082-1088, 2003.

PERICHAR, P. O. et al. Correlates of dietary energy sources with cardiovascular disease risk markers in mexican school-age children. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 110, n. 2, p. 253-260, 2010.

WEINDRUCH, R. The retardation of aging by caloric restriction: Studies in rodents and primates. **Toxicologic Pathology**, v. 24, n. 6, p. 742-745, 1996.

Recebido: 29/07/2012

Recebido: 07/29/2012

Aprovado: 20/11/2012

Approved: 11/20/2012