

CENTRO UNIVERSITÁRIO ASSIS GURGACZ
EDNEI FRANCISCO DOS SANTOS

PROBIÓTICOS E A RELAÇÃO COM CRESCIMENTO E GANHO DE PESO DE RATOS
WISTAR

CASCADEL
2018

CENTRO UNIVERSITÁRIO ASSIS GURGACZ
EDNEI FRANCISCO DOS SANTOS

PROBIÓTICOS E A RELAÇÃO COM CRESCIMENTO E GANHO DE PESO DE RATOS
WISTAR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Nutrição.

Professor Orientador: **Daniela Miotto**
Bernardi

CASCADEL
2018

CENTRO UNIVERSITÁRIO ASSIS GURGACZ

EDNEI FRANCISCO DOS SANTOS

**PROBIÓTICOS E A RELAÇÃO COM CRESCIMENTO E GANHO DE PESO DE RATOS
WISTAR**

Trabalho apresentado no Curso de Nutrição do Centro Universitário Assis Gurgacz, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Nutrição, sob a orientação da **Professora Daniela Miotto Bernardi**.

BANCA EXAMINADORA

Orientador (a) Daniela Miotto Bernardi

Doutora em Alimentos e Nutrição, na área de Nutrição Experimental Aplicada à Tecnologia de Alimentos.

Docente do curso de Nutrição no Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz em Cascavel, Paraná.

Débora Poletto Pappen

Mestre em Engenharia de Alimentos – Universidade Regional Integrada.

Docente do curso de Nutrição no Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz em Cascavel, Paraná.

Sostenez Alexandre Vessaro da Silva

Doutor em Biociências em Saúde na Linha de Fatores que Influenciam a Morfofisiologia Orgânica – Unioeste.

Docente do curso de Nutrição no Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz em Cascavel, Paraná.

Cascavel, 02/08/2018

SUMÁRIO

RESUMO	5
1. INTRODUÇÃO	5
2. MATERIAL E MÉTODOS	7
2.1 Animais e critérios éticos	7
2.2. Grupos experimentais e dietas	7
2.3 Avaliação de consumo, crescimento e comportamento dos animais	9
2.4 Eutanásias dos animais e coleta de amostra biológica	10
2.5 Composição centesimal da carcaça	10
2.6 Análises estatísticas.....	10
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	11
3.1 Consumo de ração e crescimento dos animais	11
3.2 Avaliação da composição corporal	13
3.3 Avaliação do comportamento dos modelos experimentais no decorrer de todo o experimento	15
4. CONCLUSÃO	16
5. REFERÊNCIAS.....	17
6. ANEXO 1.....	19

PROBIÓTICOS E A RELAÇÃO COM CRESCIMENTO E GANHO DE PESO DE RATOS WISTAR

¹ SANTOS, Ednei Francisco

² BERNARDI, Daniela Miotto

RESUMO

Os probióticos tem reconhecida atividade na modulação intestinal e vem sendo cada vez mais objeto de estudo no tratamento da obesidade, epidemia mundial, e comorbidades relacionadas. Lançando olhar a esse fato e como objetivo, o presente estudo procurou avaliar o efeito de probióticos (kefir e *L-casei* Shirota), no desempenho, crescimento, ganho de peso e comportamento de ratos *wistar*, sendo ministrado por gavagem. Utilizados 42 animais divididos em seis grupos (n=7): GRC - Grupo Ração Comercial Controle; GCC - Grupo Dieta de Cafeteria Controle; GRK - Grupo Ração Comercial Kefir; GCK - Grupo Dieta de Cafeteria Kefir; GRY - Grupo Ração Comercial *Lactobacillus casei* Shirota; GCY - Grupo Dieta de Cafeteria *Lactobacillus casei* Shirota (GCY). Avaliou-se o consumo de ração diário (CRD), ganho de peso diário (GPD), conversão alimentar (CA), sendo que os resultados apontam para diferença significativa nos três parâmetros, vale ressaltar que o ganho de peso se deu pelo consumo e densidade da dieta e não por influência dos probióticos, sendo que a dieta de cafeteria sim, mostrou-se eficiente para ganho de peso dos animais.

Palavras chave: ganho de peso, crescimento, probióticos, nutrição.

1. INTRODUÇÃO

O presente estudo avaliou os efeitos da incorporação de probióticos (kefir e Leite fermentado por *L casei Shirota*), sobre o desempenho, comportamento, peso de órgãos e composição corporal de ratos Wistar alimentados com diferentes dietas.

Levando em consideração que a obesidade é um processo inflamatório que pode ser causado por um desequilíbrio no microbioma intestinal chamado disbiose, (desequilíbrio entre as bactérias gram positivas e gram negativas intestinais) ela traz consigo algumas das patologias conhecidas como doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), também causa resistência à insulina (ZAMBON, 2013).

¹ Acadêmico do Curso de Nutrição do Centro Universitário Assis Gurgacz.

² Docente do Curso de Nutrição do Centro Universitário Assis Gurgacz. Doutora em Alimentos e Nutrição pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

No quadro de obesidade os LPS's, estão aumentados, devido à alta permeabilidade intestinal, e, por se tratar de uma toxina, provoca uma forte resposta do sistema imune, que atraem os macrófagos, que ao entrar em contato com os LPS's desencadeiam processo inflamatório, chamado de Endotoxemia Metabólica (MOREIRA, 2013, KELISHADI, *et. al*,2014).

Dietas ricas em produtos alimentícios industrializados e ultraprocessados, estresse, uso indiscriminado de medicamentos, maus hábitos de vida, (cigarros, baladas, medicamentos, drogas, sono ruim etc.) (FERNANDES, 2015), todos esses fatores, e muitos outros ainda, causam alteração na permeabilidade intestinal, os quais aumentam os níveis séricos de LPS (MOREIRA, 2013).

Um indivíduo obeso, ao tentar reverter esse quadro e emagrecer, pode se deparar com uma dificuldade, pois com emagrecimento tem a liberação de toxinas (endotoxinas), que estavam armazenadas no tecido adiposo e que por sua vez acaba causando hiperplasia e hipertrofia desse tecido, dificultando e muito o processo de emagrecimento. Fazendo claro esses conceitos, não há que se falar em emagrecimento, mas sim em redução do processo inflamatório, portanto, oferecer ao organismo um ambiente propício para reverter, principalmente, os efeitos tóxicos e inflamatórios da má alimentação (KELISHADI, *et. al*,2014).

Devido a essa sequência de eventos demonstrado, as bactérias intestinais, parecem ser um grande alvo para o tratamento da obesidade, pois atualmente é descrito que existe uma íntima ligação que entre o sistema imune, a resistência à insulina e a obesidade. O uso de probióticos vem sendo objeto de estudo no tratamento da obesidade e comorbidades relacionadas, em estudo com camundongos Swiss obesos pode-se observar melhora significativa nos parâmetros fisiológicos e moleculares da resistência à insulina (ZAMBON, 2013).

A investigação se dá nos mecanismos de controle da fome, da saciedade e da inflamação. Estudos concluíram então, que a administração de probióticos restabelece a microbiota, favorece o controle da obesidade, e estimula a homeostase corporal (BRANCHER, 2014).

Há carência de estudos mais aprofundados e homogêneos, no que diz respeito as cepas utilizadas, o que se observa é que os estudos analisam uma gama muito diversificada, acarretando um viés de dúvida nos esclarecimentos dos mecanismos estudados, não possibilitando ao profissional recomendações mais sofisticadas de formulações. (BRANCHER, 2014).

Em estudo de revisão sistemática, chegou-se à duas cepas que se apresentam eficientes nas reduções de peso corporal, circunferência abdominal e gordura visceral subcutânea, o *Lactobacillus gasseri* e o *Lactobacillus rhamnosus*, esses aparecem em quadros que demonstram os resultados ora explanados (BRANCHER, 2014).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e critérios éticos

O experimento foi realizado de acordo com a legislação brasileira sobre o uso científico de animais (lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008). O protocolo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade Assis Gurgacz (CEUA-FAG), por meio do protocolo nº. 075/2017 de 07 de dezembro de 2017 (ANEXO 1).

Para o desenvolvimento do presente trabalho, foram utilizados 42 ratos, recém desmamados, de linhagem Wistar. Os animais foram obtidos e mantidos no Biotério do Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz, (Cascavel, Paraná, Brasil), em gaiolas individualizadas com temperatura ambiente de 22 ± 2 °C e com ciclo de 12 horas claro e 12 horas escuro, com a dieta e água '*ad libidum*'.

2.2. Grupos experimentais e dietas

Os animais foram divididos em seis grupos:

- Grupo Ração Comercial Controle (GRC): Com dieta comercial (BIOBASE), sendo ministrado solução salina por Gavagem;
- Grupo Dieta de Cafeteria Controle (GCC): Com dieta composta por ração comercial, biscoito recheado, chocolate ao leite, batata palha, bacon e patê (CAMPION et al., 2004), sendo ministrado Solução Salina por Gavagem;
- Grupo Ração Comercial Kefir (GRK): Com dieta comercial (BIOBASE), sendo ministrado Kefir por Gavagem;
- Grupo Dieta de Cafeteria Kefir (GCK): Com dieta composta por ração comercial, biscoito recheado, chocolate ao leite, batata palha, bacon e patê (CAMPION et al., 2004), sendo ministrado Kefir por Gavagem;
- Grupo Ração Comercial *Lactobacillus casei* Shirota (GRY): Com dieta comercial (BIOBASE), sendo ministrado *Lactobacillus casei* Shirota por Gavagem;
- Grupo Dieta de Cafeteria *Lactobacillus casei* Shirota (GCY): Com dieta composta por ração comercial, biscoito recheado, chocolate ao leite, batata palha, bacon e patê (CAMPION et al., 2004), sendo ministrado *Lactobacillus casei* Shirota por Gavagem;

Para preparo da dieta, os pesquisadores usaram para os ingredientes relacionados na Tabela 01. Os ingredientes foram triturados em liquidificador industrial (POLI, LS-04MB), moldados em formatos de *pellets* e submetidos ao processo de secagem em estufa por circulação de ar (ETHIK, FRANÇA), em temperatura de 55°C por exatos três dias, até alcançar uma consistência firme.

Como outrora mencionado, as dietas foram ofertadas '*ad libidum*' e a troca era realizada a cada dois dias.

Os animais receberam o leite fermentado de kefir, o leite fermentado por *L casei Shirota* e solução salina, por método de gavagem, na proporção de (1mL / 100g de peso), com uma sonda orogástrica de ponta arredondada, sendo que todos sofreram o mesmo estresse para que o experimento fosse o mais fidedigno possível.

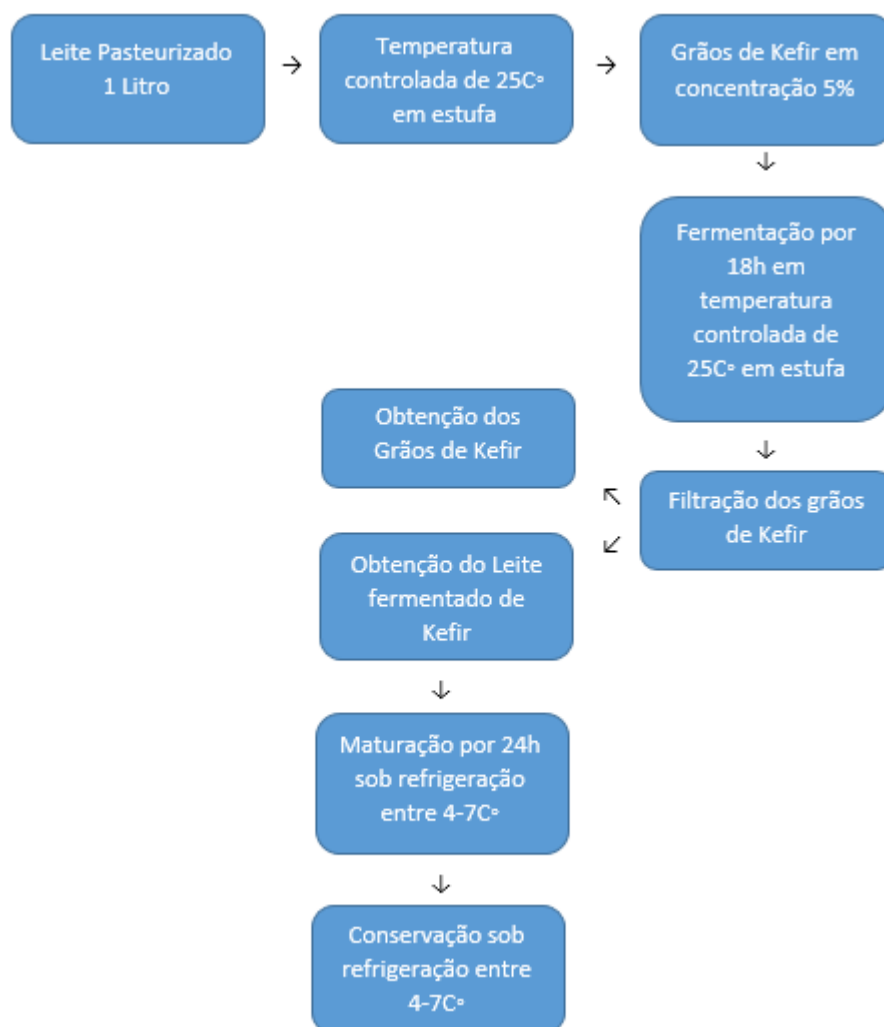
Tabela 01. Formulação da dieta de cafeteria (para 1kg de ração)

Ingrediente	Dieta de cafeteria (g)*
Ração comercial	142,85
Biscoito doce	142,85
Batata palha	142,85
Chocolate ao leite	142,85
Bacon	142,85
Patê	285,7

*Fonte: CAMPIÓN et al., 2004.

O leite fermentado de Kefir, foi produzido a partir da adição de 5% de grãos de kefir em um litro de leite pasteurizado, o qual permaneceu à temperatura controlada de 25° em estufa por 18 horas, segundo Choi *et al.* (2017). Após a fermentação, a amostra foi filtrada a partir de uma peneira plástica, reservando o líquido extraído em refrigerador, em recipiente de vidro por 24h a temperatura de 4 a 7 °C para descanso. A cada 72 horas era produzido novo leite fermentado do kefir. O fluxograma da produção da amostra está descrito na Figura 1. Em relação ao leite fermentado *Lactobacillus casei Shirota*, este foi obtido a partir de um produto comercial.

Figura 1: Coleta e preparo do leite fermentado de Kefir



2.3 Avaliação de consumo, crescimento e comportamento dos animais

Os modelos experimentais tiveram peso aferido no primeiro dia do experimento, a cada 7 dias, e no dia anterior à eutanásia. Também passaram por monitoramento de ingestão alimentar, sendo trocadas a cada dois dias, ração e água. Para isso fez-se necessário avaliar o efeito da dieta sobre o ganho de peso dos animais.

Ao final do experimento realizou-se o cálculo médio de consumo de ração diário (CRD), do ganho médio de peso diário (GPD), aferindo a partir desses valores o cálculo de conversão alimentar (CA) com respectiva fórmula: $CA = CRD/GPD$.

No decorrer dos procedimentos ao tratamento dos animais (gavagem, troca de ração e maravalha e aferição de peso), os tratadores perceberam nuances comportamentais atípicas dos

animais, se fazendo valer de vídeos e fotos registraram quaisquer desvios anormais que pudessem servir de material relevante à posterior estudo e discussão sobre o fato/comportamento.

No tocante ao desempenho/desenvolvimento utilizou-se o Índice de Lee, método que se assemelha a aferição do IMC em se tratando de seres humanos, aos roedores utiliza-se esse parâmetro para mensurar o índice de massa corpórea, ganho de peso, gordura corporal etc., para se fazer esse cálculo, é necessário aferir o peso do animal e o comprimento nasoanal.

2.4 Eutanásias dos animais e coleta de amostra biológica

Ao final do experimento os ratos foram anestesiados por éter *isoflurano* (Abbott, Brasil), por via inalatória, em caixa de vidro, seguindo para sala em separado, e eutanasiados por decapitação com guilhotina. Os animais, após a eutanásia, foram posicionados em decúbito dorsal em uma mesa cirúrgica para o procedimento de incisão peitoral e retirada de fígado, baço, rins, coração, cérebro e carcaça eviscerada, os quais foram pesados em balança eletrônica digital (TOLEDO, MODELO 9094 – Brasil). Posteriormente foi realizado um cálculo do percentual que cada órgão representava em relação ao peso da carcaça.

2.5 Composição centesimal da carcaça

A carcaça eviscerada foi seca em estufa de circulação de ar (ETHIK, FRANÇA), à 70 °C, por sete dias. Posteriormente as amostras foram trituradas e submetidas às análises de composição centesimal.

As análises de proteína, umidade e cinzas foram conduzidas pelas metodologias descritas pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 2008), de acordo com os métodos 0,37/IV, 012/IV e 018/IV, respectivamente. A determinação de lipídios foi conduzida de acordo com metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959).

2.6 Análises estatísticas

Para tabulação dos dados coletados foi utilizado o programa Microsoft Office Excel 2016. Os dados de crescimento e desempenho, porcentual do peso de órgãos em relação ao peso da carcaça e composição centesimal da carcaça, foram expressos em a média e desvio padrão. As diferenças

entre os grupos foram estatisticamente testadas por análise da variância (ANOVA) com o teste de médias de Tukey em valores significativos. Foram considerado significativos os valores de probabilidade $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Consumo de ração e crescimento dos animais

Na Tabela 02 estão apresentados os dados de ganho de peso (GPD), do consumo de ração diário (CPD) e da conversão alimentar (CA).

Tabela 02. Consumo de ração diário (CRD), ganho médio de peso diário (GPD) e conversão alimentar (CA) de ratos Wistar alimentados com ração comercial controle (GRC), ração comercial e Kefir (GRK), ração comercial e *L. casei* Shirota (GRY), dieta de cafeteria controle (GCC), dieta de cafeteria e Kefir (GCK) e dieta de cafeteria e *L. casei* Shirota (GCY)

Tratamento	CRD*(g)	GPD* (g)	CA*
GRC	20,95±2,02 A	4,43±0,39 A	4,73±0,21 AC
GRK	19,66±2,73 A	3,92±0,98 AC	5,20±1,02 A
GRY	20,0±1,54 A	4,06±0,55 A	4,96±0,45 A
GCC	10,14±1,43 B	2,61±0,39 B	3,90±0,39 B
GCK	8,67±1,78 B	2,16±0,59 B	4,09±0,56 BC
GCY	10,50±1,07 B	2,94±0,37 BC	3,59±0,38 B
DMS	2,83	0,81	0,70
Valor P	<0,001	<0,001	<0,001

*Letras maiúsculas nas colunas representam diferença de médias pelo teste de Tukey

De acordo com os dados apresentados na tabela acima se verifica que houve diferença estatística para os 3 parâmetros avaliados (CRD, GPD, CA).

No que tange o consumo de ração diária os resultados sugerem que o consumo foi estatisticamente maior nos animais alimentados com dieta comercial (GRC, GRK e GRY), quando comparado aos alimentados com dieta de cafeteria (GCC, GCK e GCY), diferença essa, que pode ser justificada pela maior aceitação dos animais pela dieta comercial ou até mesmo pela densidade calórica da dieta de cafeteria que é maior, nutricionalmente, quando comparada à comercial, ou seja, a menor quantidade da ração, acabaria por fornecer valor calórico semelhante.

Em relação ao ganho de peso diário os animais alimentados com dieta comercial (GRC, GRK e GRY) também apresentaram maior ganho de peso que os alimentados com dieta de cafeteria (GCC,

GCK e GCY), vale ressaltar que o tratamento GRK foi estatisticamente igual ao GRY, ou seja, a oferta dos probióticos não tiveram influência significativa no aumento de peso dos animais.

Sabendo que CA é um parâmetro usado na avaliação da relação, consumo de ração/ganho de peso ($CA = CRD/GPD$), quanto menor o valor de CA, mais eficiente é a dieta, ou seja, se tem um menor consumo de ração e um ganho de peso maior, é mais eficiente a dieta, dessa forma pudemos observar que o menor ganho de peso real do animais alimentados com dieta de cafeteria pode ser devido à baixa palatabilidade da ração, e que se o consumo fosse maior ganharia mais peso do que os animais alimentados com dieta comercial.

No presente estudo ao avaliar a conversão alimentar, verificou-se que os menores valores de CA foram observados nos animais alimentados com dieta de cafeteria (GCC, GCK e GCY), portanto, isso sugere que esta dieta apresenta maior eficiência em promover o ganho de peso dos animais.

Choi *et al.* (2017), mostra que uma dieta rica em gorduras e caloricamente mais densa, em um período de 8 semanas, tiveram aumento de peso corporal, em ratos submetidos a esse protocolo, sendo que chegaram a desenvolver obesidade.

Eguchi *et al.* (2008), traz em seu estudo, resultados bastante semelhantes em administração de dieta de cafeteria e aumento de peso em modelos experimentais, chegando a triplicar o peso dos ratos.

Quanto a administração dos probióticos, tanto o Kefir quanto o leite fermentado com *L casei Shirota*, não tiveram impacto significativo nos parâmetros supracitados, foco do presente estudo, embora eles tenham valor calórico não foi pela administração desses que se obteve o resultado com relação ao ganho de peso, mas sim, pela intervenção dietética.

O que se pode perceber é que o kefir teve um excelente resultado para não promover ganho de peso, tanto no tratamento de dieta comercial (GRC, GRK GRY), quanto no tratamento de dieta de cafeteria (GCC, GCK GCY), ou seja, a mesma intervenção dietética, porém, para os animais que tiveram ministrados o Kefir, o ganho de peso se mostrou menor significativamente, dado esse que corrobora estudos anteriores, como por exemplo, Chen *et. al* (2013), observou que camundongos obesos, em tratamento com Kefir, pesaram significativamente menos e tiveram uma melhor de 39% na taxa metabólica basal, resultado que traz aumento do gasto energético diário total. Choi *et. al* (2017) em tratamento de dieta hiperlipídica e hipercalórica com intervenção de Kefir, chegou a ser enfático quando a descrever seus resultados “a intervenção com 2% de Kefir em pó pode impedir completamente o ganho de peso induzido pela dieta”.

Na Tabela 03 estão descritos os resultados do peso das carcaças e o percentual dos órgãos em relação ao peso de carcaça, parâmetros empregado para analisar o impacto dos tratamentos nos órgãos dos animais.

Tabela 03. Peso dos órgãos em relação à carcaça de ratos Wistar alimentados com ração comercial controle (GRC), ração comercial e Kefir (GRK), ração comercial e *L. casei* Shirota (GRY), dieta de cafeteria controle (GCC), dieta de cafeteria e Kefir (GCK) e dieta de cafeteria e *L. casei* Shirota (GCY)

Tratamento	Peso da carcaça	% Coração (g)	% Fígado (g)	% Baço (g)	% Rim (gr)	% Cérebro (gr)
GRC	239,20±39,89	0,43±0,05 AB	2,83±0,20	0,19±0,02	0,77±0,06 AB	0,42±0,06 B
GRK	220,53±39,15	0,40±0,03 B	2,66±0,17	0,20±0,02	0,76±0,06 AB	0,44±0,06 B
GRY	219,05±21,28	0,46±0,06 AB	2,98±0,47	0,18±0,02	0,81±0,06 A	0,44±0,04 B
GCC	163,11±6,97	0,50±0,06 A	2,70±0,14	0,18±0,02	0,73±0,06 AB	0,55±0,04 A
GCK	149,62±29,72	0,48±0,05 AB	3,06±0,44	0,18±0,02	0,76±0,05 AB	0,61±0,08 A
GCY	178,33±9,62	0,44±0,02 AB	2,72±0,18	0,17±0,04	0,69±0,03 B	0,55±0,04 A
DMS	44,21	0,08	0,55	0,03	0,08	0,80
Valor P	<0,001	0,01	0,18	0,42	0,006	<0,001

Letras maiúsculas nas colunas representam diferença de médias pelo teste de Tukey

De acordo com os resultados de peso dos órgãos em relação ao peso da carcaça úmida, verificou-se que apenas coração, rim e cérebro foram influenciados estatisticamente pelos tratamentos. O coração dos animais foi estatisticamente maior no tratamento GCC, e menor no tratamento GRK, sendo nos demais tratamentos iguais estatisticamente. Quanto ao peso do rim, os maiores percentuais de peso foram observados para os GRY, ao passo que os menores percentuais foram observados no GCY, sendo os demais considerados estatisticamente iguais. Em relação ao peso do cérebro observou-se forte influência da dieta, e não do probiótico administrado, sobre o peso do órgão comparado ao peso da carcaça, ou seja, os animais alimentados com dieta de cafeteria apresentaram maiores percentuais de peso do cérebro.

Em varredura da literatura não foram encontrados estudos científicos que demonstrem uma relação de aumento de órgãos em tratamento de dieta de cafeteria, pelo contrário, para Borba (2011), aponta especificamente aumento de massa gorda em tratamento com dieta de cafeteria, uma vez que “órgãos como fígado, rins e baço, não apresentaram variações significativas”.

3.2 Avaliação da composição corporal

Na Tabela 04 estão apresentados os resultados relacionados à composição corporal dos animais.

Tabela 04. Avaliação da composição corporal de ratos Wistar alimentados com ração comercial controle (GRC), ração comercial e Kefir (GRK), ração comercial e *L. casei* Shirota (GRY), dieta de cafeteria controle (GCC), dieta de cafeteria e Kefir (GCK) e dieta de cafeteria e *L. casei* Shirota (GCY)

Tratamento	Índice de Lee	Lipídeos	Proteínas	Umidade	Cinzas
GRC	23,77±1,32 AC	31,54±2,11 BC	57,47±4,17AC	4,07±0,31	10,25±1,68 A
GRK	24,97±0,99 A	28,21±4,53 B	64,52±8,43A	4,06±0,60	9,31±1,06 AC
GRY	24,78±0,71 A	27,07±5,27 B	57,29±3,63AC	3,97±0,44	9,35±1,83 A
GCC	22,82±0,40 BC	37,52±0,78 AC	45,28±8,77B	3,64±0,48	7,43±0,72 BC
GCK	22,10±0,85 B	37,43±4,80 AC	56,20±2,61AC	3,64±0,79	7,11±1,77 BC
GCY	22,93±0,67 BC	42,13±3,99A A	53,99±2,57BC	5,38±2,45	6,55±1,65 B
DMS	1,56	7,17	10,21	1,80	2,59
Valor P	<0,001	<0,001	<0,001	0,06	0,0006

Letras maiúsculas nas colunas representam diferença de médias pelo teste de Tukey

Os resultados do índice de Lee diferiram estatisticamente, sendo que os animais alimentados com ração comercial apresentaram maior índice de Lee quando comparados aos animais alimentados com dieta de cafeteria. Este resultado pode ser correlacionado ao maior ganho de peso diário apresentado pelos animais alimentados com dieta comercial. Por outro lado, é possível observar também, que nos animais alimentados com dieta de cafeteria, o kefir promoveu um efeito redutor no índice de Lee, uma vez que o tratamento GCK foi o que apresentou menor resultado para esse parâmetro.

Quanto ao índice de Lee, há uma grande divergência na literatura, a respeito dos resultados obtidos OLIVEIRA (2017), traz em pesquisa que realizou, a indução de ganho de peso e obesidade em 100% dos modelos submetidos ao tratamento, em 17 semanas. Já para SANTOS (2016), não houve diferença estatística significativa no que tange ao ganho de peso, único parâmetro avaliado no estudo. Pastore et al. (2010), em 12 semanas, não observou diferença estatística significativa, no ganho de peso. Para Souza (2001), os animais de seu experimento não necessariamente ganharam peso com a dieta hipercalórica, quando comparados ao grupo controle, fundamentando esse resultado

da mesma forma que outrora comentado aqui nesse trabalho, que se deve à densidade calórica da dieta de cafeteria ser maior que a dieta convencional para esse tipo de animal.

Parece que a falta de padronização dos ingredientes da ração na dieta de cafeteria, se deve aos parâmetros intrínsecos que cada estudo específico visa analisar, cada pesquisador se vale de protocolo diferenciado para os seus respectivos estudos, visando induzir os modelos experimentais à patologia desejada.

Outra análise conclusiva é que os diversos estudos pesquisados tiveram os modelos experimentais, tratados com dieta de cafeteria, induzidos à obesidade.

Quanto à análise de lipídeos é perceptível o aumento do tecido lipídico no tratamento com dieta de cafeteria. Para Oliveira (2017), se elevou especificamente a massa gorda dos animais, assim como o presente estudo, que teve um aumento estatístico significativo de lipídeos.

Para umidade não se observou diferença estatística significativa.

Quanto as cinzas, se observou que a dieta de cafeteria pode trazer desmineralização óssea, uma vez que os animais alimentados por esta dieta (GCC, GCK e GCY) apresentaram estatisticamente menor % de cinzas na carcaça, sendo que o grupo (GCY) foi o que teve o maior impacto negativo.

Para Reis et al. (2016) “houve um aumento do número de osteócitos associados a uma menor espessura do osso cortical da tíbia das ratas”. Segundo esse estudo o fenômeno ocorreu como causa a obesidade das ratas. Ainda segundo esse estudo: “há evidências crescentes que sugerem uma associação positiva entre aumento de gordura corporal e densidade mineral óssea, resultantes do aumento do peso corporal”.

3.3 Avaliação do comportamento dos modelos experimentais no decorrer de todo o experimento

Em relação ao comportamento de ratos Wistar, se retrata um comportamento pouco agressivo e de fácil adaptação aos pesquisadores que executavam o procedimento, a gavagem. Houve uma relação tranquila com os modelos experimentais ao manipulá-los para o procedimento de gavagem, até por volta do quadragésimo dia, porém a partir deste dia alguns animais ficaram agressivos.

Especificamente o modelo G3 A1 e o modelo G2 A2, os que apresentaram maior crescimento e peso corporal, começaram a demonstrar comportamento agressivo, o que dificultou a manipulação para os procedimentos, contribuindo assim para o aumento do estresse dos demais animais.

O que parece ter contribuído para o estresse, é que a seringa, apesar de ser abaulada, a reiteração do procedimento, acabou por machucar a garganta dos animais, que, em algumas ocasiões

apresentaram traços de sangue em torno da mucosa nasal, o que explicaria o comportamento agressivo.

Um modelo experimental, apresentou, problema de lateralidade, onde ficou com a parte esquerda torta.

4. CONCLUSÃO

Observamos pelo presente estudo, que o consumo de ração teve diferença significativa no que tange ao ganho de peso e desempenho dos animais, se devendo então, a dieta ministrada, e não aos probióticos, esses resultados observados, sendo que a dieta de cafeteria teve uma maior conversão alimentar, mas pouca aceitação dos animais.

Quando analisamos os efeitos dos probióticos, o presente trabalho demonstrou que o Kefir pode ser um poderoso aliado na prevenção da obesidade, pois, nos grupo que tiveram ministrado o Kefir, apresentaram significativa diferença nos resultados para aumento de tecido adiposo, e ainda tiver preservação proteica, um bom indicador que pode ter maiores esclarecimentos em estudos mais aprofundados, confirmando, então, essa propriedade do Kefir.

A partir do presente estudo, pudemos observar também a eficiência do método de gavagem que não deixa margem para erro nas quantidades ministradas, porém em trabalhos como esse, de longa duração e com procedimento sendo feito diariamente, causou certo estresse nos animais o que dificultou um pouco no final do período estipulado.

5. AGRADECIMENTOS

Deixo aqui meus agradecimentos ao hospital veterinário do Centro Universitário da Faculdade Assis Gurgacz, que nos ofereceu toda a infraestrutura para desenvolver tal pesquisa.

Um agradecimento especial à Fundetec - Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico, que se mostrou uma forte parceira no desenvolvimento de pesquisas e que também nos acolheu de forma ímpar.

Aos colegas que encararam essa empreitada junto à mim e deram o máximo para que tudo saísse como o planejado, agradeço aqui ao Carlos, Carol e Felipe, unidos fomos mais.

A professora Daniela Miotto Bernardi, Orientadora, que abraçou o projeto e nos deu todo o suporte para que conduzíssemos da melhor forma possível.

Agradeço à Deus, à minha mãe, e dedico esse trabalho ao meu falecido Pai.

5. REFERÊNCIAS

- Bligh EG & Dyer WJ. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** Can, J. Biochem. Physiol. 37: 911-917, 1959.
- BRANCHER, J. S.; **Uso de probiótico no tratamento da obesidade: uma revisão sistemática.** Porto Alegre, 2014.
- CAMPION, J.; ALFREDO, M. **Ketoconazole, an antifungal agent, protects against adiposity induced by a cafeteria diet.** New York, 2004.
- CHEN H-L; TUNG Y-T; TSAI C-L; LAI, C-W; LAI, Z-L; TSAI, H-C; LIN, Y-L; WANG, C-H; CHEN, C-M. Kefir improves fatty liver syndrome by inhibiting the lipogenesis pathway in leptin-deficient ob/ob knockout mice. **International Journal of Obesity advance online publication, 14 January 2014.**
- CHOI, J-W; KANG, H-W; LIM, W-C; KIM, M-K; LEE, I-Y; CHO, H-Y. Kefir prevented excess fat accumulation in diet-induced obese mice. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2017.**
- EGUCHI, R.; CHEIK, N, C.; OYAMA, L, M.; NASCIMENTO, C, M, O.; MELLO, M, T.; TUFIK, S.; DÂMASO, A.; **Efeito do exercício crônico sobre a concentração circulante da Leptina e Grelina em ratos com obesidade induzida por dieta.** Rev Bras Med Esporte – Vol. 14, No 3 – Mai/Jun, 2008.
- FERNANDES, L. L. **Hábitos de vida saudáveis: Prevenindo a Obesidade e outras doenças cardiovasculares.** Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2015.
- Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- KELISHADI, R; FARAJIAN, S; SAFAVI, M; MIRLOHI, M; HASHEMIPOUR, M. A randomized triple-masked controlled trial on the effects of synbiotics on inflammation markers in overweight children. **J Pediatr (Rio J).** 2014;**90**:161-8.
- MOREIRA, A, P, B. Influência da dieta na Endotoxemia metabólica. **HU Revista**, Juiz de Fora, v. 40, n. 3 e 4, p. 203-208, jul/dez. 2013.
- OLIVEIRA, G, S. **Efeito de um modelo de dieta de cafeteria no crescimento e estado nutricional em ratos Wistar.** Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.
- PASTORE, A. P; CESARETTI, M. L. R.; GINOZA, M.; VOLTERA, A. F.; JUNIOR, O. K. **Efeito da associação entre obesidade neuroendócrina e exócrina experimental sobre a pressão arterial de cauda e o metabolismo de glicose de ratos Wistar.** Jornal Brasileiro de Nefrologia. Sociedade Brasileira de Nefrologia, v. 32, n. 2, p. 195-200, 2010.

DOS REIS, Gustavo Henrique et al. AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO DE RATAS OBESAS INDUZIDAS POR DIETA DE CAFETERIA. **Biológicas & Saúde**, [S.l.], v. 6, n. 20, jun. 2016. ISSN 2236-8868.

SANTOS, J. P. S. O. **Dieta de cafeteria: produção, composição nutricional e influência na glicemia de jejum em modelo animal**. 33f. Monografia (Graduação em Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2016.

TORRES, A. **Blog Andreia Torres, PhD**. Disponível em:

<<http://andreiatorres.com.br/blog/2016/5/23/endotoxemia-metablica>>, Acesso em: 01 de out. 2017.

ZAMBON, R. A. B. **Efeitos da suplementação de probióticos na prevenção da obesidade e suas complicações em camundongos Swiss**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2013.

6. ANEXO 1



ACULDADE ASSIS GURGACZ



PARECER CEUA/FAG Nº 075/2017

Certificamos que o projeto intitulado “Probióticos e seu efeito sobre o metabolismo de ratos wistar” protocolo nº 1753, sob a responsabilidade de Daniela Miotto Bernardi e Sóstenez Alexandre Vessaro da Silva - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – 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 **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/FAG) do Centro Universitário Assis Gurgacz, em reunião de 07/12/2017.

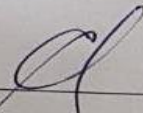
Vigência do Projeto	01/03/2018 a 01/05/2018
Espécie/linhagem	Ratos Wistar
Nº de animais	56
Peso/Idade	30 g aproximadamente
Sexo	Machos
Origem	Biotério Centro Universitário Assis Gurgacz

Ao final do projeto, quando aprovado, o pesquisador / professor deverá encaminhar à CEUA/FAG para acompanhamento da pesquisa o **relatório final** e a publicação de seus resultados, **até 60 dias** após o término do experimento bem como a comunicação de qualquer intercorrência, efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas à CEUA/FAG de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

O pesquisador / professor deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pela CEUA/FAG que o aprovou, aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao animal participante que requeiram ação imediata.

Cascavel, 07/12/2017


Adriano Ramos Cardoso
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Centro Universitário - FAG

Comissão de Ética no
Uso de Animais - CEUA
Centro Universitário Assis Gurgacz