

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
INSTITUTO BIOMÉDICO  
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

RAISSA DE ALMEIDA GUIMARÃES

**INDUÇÃO DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2): DIETA  
HIPERCALÓRICA POR CONSUMO DE SACAROSE EM FÊMEAS C57BL/6**

NITERÓI  
2022

RAISSA DE ALMEIDA GUIMARÃES  
ORIENTADOR: PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> CARLA EPONINA DE CARVALHO PINTO  
CO-ORIENTADOR: DR<sup>a</sup> LIA RAFAELLA BALLARD KUHNERT  
DEPARTAMENTO DE IMUNOBIOLOGIA - LAPE

**INDUÇÃO DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2): DIETA  
HIPERCALÓRICA POR CONSUMO DE SACAROSE EM FÊMEAS C57BL/6**

Monografia apresentada ao curso de graduação em Biomedicina, área de concentração Análises Clínicas, da Universidade Federal Fluminense, como requisito final para obtenção do grau de Bacharel.

Ficha catalográfica automática - SDC/BIB  
Gerada com informações fornecidas pelo autor

G963i Guimaraes, Raissa de Almeida  
INDUÇÃO DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2): DIETA  
HIPERCÁLORICA POR CONSUMO DE SACAROSE EM FÊMEAS C57BL/6 /  
Raissa de Almeida Guimaraes. - 2022.  
43 f.: il.

Orientador: Carla Eponina de Carvalho Pinto.  
Coorientador: Lia Rafaella Ballard Kuhnert.  
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação)-Universidade  
Federal Fluminense, Instituto Biomédico, Niterói, 2022.

1. Diabetes Mellitus Tipo 2. 2. Indução Experimental. 3.  
Toxicidade da sacarose ou açúcar comum. 4. Produção  
intelectual. I. Pinto, Carla Eponina de Carvalho, orientador.  
II. Kuhnert, Lia Rafaella Ballard, coorientador. III.  
Universidade Federal Fluminense. Instituto Biomédico. IV.  
Titulo.

CDD - XXX

RAISSA DE ALMEIDA GUIMARÃES

**INDUÇÃO DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2): DIETA  
HIPERCALÓRICA POR CONSUMO DE SACAROSE EM FÊMEAS C57BL/6**

Monografia apresentada ao curso de graduação em Biomedicina, área de concentração Análises Clínicas, da Universidade Federal Fluminense, como requisito final para obtenção do grau de Bacharel.

## **BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dr<sup>a</sup> Carla Eponina de Carvalho Pinto  
Universidade Federal Fluminense  
(presidente e orientadora)

Profa. Jussara Machado Lagrota Candido  
Universidade Federal Fluminense  
(membro titular)

Profa. Verônica Figueiredo do Amaral  
Universidade Federal Fluminense  
(membro titular)

Dr<sup>a</sup> Lia Rafaella Ballard Kuhnert  
Instituto Oswaldo Cruz  
(membro suplente e coorientadora)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter escrito a minha história antes mesmo de chegar até aqui.

À minha família, gratidão eterna. Me deram todo o suporte financeiro e emocional para tornar essa caminhada possível, mesmo com as dificuldades, sempre acreditaram que o esforço valeria a pena. Pai, mãe, irmão, obrigada por toda a dedicação, vocês passaram por cada momento juntamente comigo, mesmo longe. Vovó também fez parte desse sonho.

Nessa jornada, fiz amigos que eu não poderia querer melhores. Amanda, Thuane, Jordana, sempre dividindo experiências e o jantar, muitas conversas falando sobre as dificuldades, muitas conversas sobre conquistas e sorrisos. Jhennyfer, minha maior confidente e parceira de cada luta e descoberta dentro e fora da biomedicina, obrigada por tudo amiga. Laura, das primeiras amizades que fiz na faculdade, fomos juntas até o final.

Ao longo dessa caminhada, muitas pessoas passaram e outras permaneceram no caminho. Iago, a pessoa que acreditou em mim mais que eu mesma, ouviu meu choro, me aconselhou e dizia “isso é só o começo da sua grande jornada”.

A todos que sonharam comigo, eu só tenho a agradecer. Cada um de vocês teve e têm uma importância imensurável para mim, não somente durante a graduação, mas em minha vida.

Professora Carla, ao meu lado desde 2019, cada projeto investido, cada trabalho que dedicou a mim e acreditou, obrigada. Amanda Santos, cada dica eu carreguei comigo até hoje, o laboratório de patologia não seria o mesmo sem você. Lia, minha coorientadora, me salvando sempre e aconselhando nos momentos em que pensei em desistir, obrigada.

## RESUMO

No Brasil 14 milhões de pessoas sofrem com a diabetes e até 2045, estima-se que serão 23 milhões, sendo considerado um problema de saúde pública mundial. Nos últimos 50 anos, o consumo de açúcar triplicou e tem sido usado em larga escala pela indústria alimentícia em produtos processados, sinalizando ser um dos principais causadores de diabetes tipo 2 (DM2). Assim, para continuidade dos trabalhos no nosso laboratório, decidimos fazer uma revisão bibliográfica levando em consideração 15 anos de pesquisas sobre as DMs, e paralelamente gerar um modelo animal diabético por indução hiperclórica. O biomodelo foi resultado da suplementação de sacarose ou açúcar comum, na água de camundongos fêmeas da linhagem C57Bl/6. Durante o período de 30 semanas, os animais foram acompanhados semanalmente para observação de ganho de peso, consumo de ração, mensalmente aferição glicêmica e teste de tolerância à glicose antes da eutanásia. Desse modo, os resultados obtidos até o momento, demonstraram que o C57Bl/6 pode não ser o melhor modelo experimental para indução da DM2, mas sinaliza para a relevância do açúcar no desenvolvimento da doença.

**Palavras-chave:** DM2, biomodelo, diabetes, sacarose.

## **ABSTRACT**

In Brazil 14 million people suffer from diabetes and by 2045, it is estimated that there will be 23 million, being considered a worldwide public health problem. In the last 50 years, sugar consumption has tripled and has been used in large scale by the food industry in processed products, signaling that it is one of the main causes of type 2 diabetes (T2DM). Thus, to continue the work in our laboratory, we decided to do a literature review taking into account 15 years of research on DMs, and in parallel to generate a diabetic animal model by hyperchloric induction. The bio-model resulted from the supplementation of sucrose, or common sugar, in the water of female mice of the C57Bl/6 strain. During the period of 30 weeks, the animals were followed weekly for observation of weight gain, feed consumption, monthly glucose measurement and glucose tolerance test before euthanasia. Thus, the results obtained so far demonstrated that the C57Bl/6 may not be the best experimental model for induction of DM2, but it signals the relevance of sugar in the development of the disease.

**Keywords:** DM2, bio-model, diabetes, sucrose



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa da evolução da diabetes no mundo.....	11
Figura 2. Esquema ilustrativo do pâncreas. ....	13
Figura 3. Esquema de regulação homeostática .....	14
Figura 4. Peso corporal dos animais experimentais.....	27
Figura 5. Ingestão alimentar dos camundongos.....	28
Figura 6. Glicemia ao longo das semanas de experimentação .....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA – do inglês *American Diabetes Association*  
AGL – ácido graxo livre  
CEUA – comitê de ética no uso de animais  
DCNT – doença crônica não transmissível  
DeCS – descritores em ciências da saúde  
DM – diabetes mellitus  
DM1 – diabetes mellitus tipo 1  
DM2 – diabetes mellitus tipo 2  
DP – desvio padrão  
EDTA – etilenodiamino tetra-acético  
GJP – glicemia de jejum prejudicada  
G1 – grupo 1  
G2 – grupo 2  
Hb – hemoglobina  
HbA1c – hemoglobina glicada  
HFD – do inglês *High Fat Diet*  
HPLC – do inglês *High Pressure Liquid Chromatography*  
IDF – do inglês *International Diabetes Federation*  
IGT – do inglês *Impaired Glucose Tolerance*  
NAL – núcleo de animais de laboratório  
OMS – organização mundial de saúde  
PG – do inglês *Plasma Glucose*  
RI – resistência à insulina  
SBD – sociedade brasileira de diabetes  
TOTG – teste oral de tolerância à glicose

## **LISTA DE TABELAS**

Quadro 1. Valores de referência de exames para diagnósticos para DM

Quadro 2. Informações nutricionais da ração comercial Nuvilab CR-1

Quadro 3. Informações nutricionais do açúcar comum

Tabela 1. Peso corporal das fêmeas C57BL/6 ao longo das 30 semanas de tratamento

## SUMÁRIO

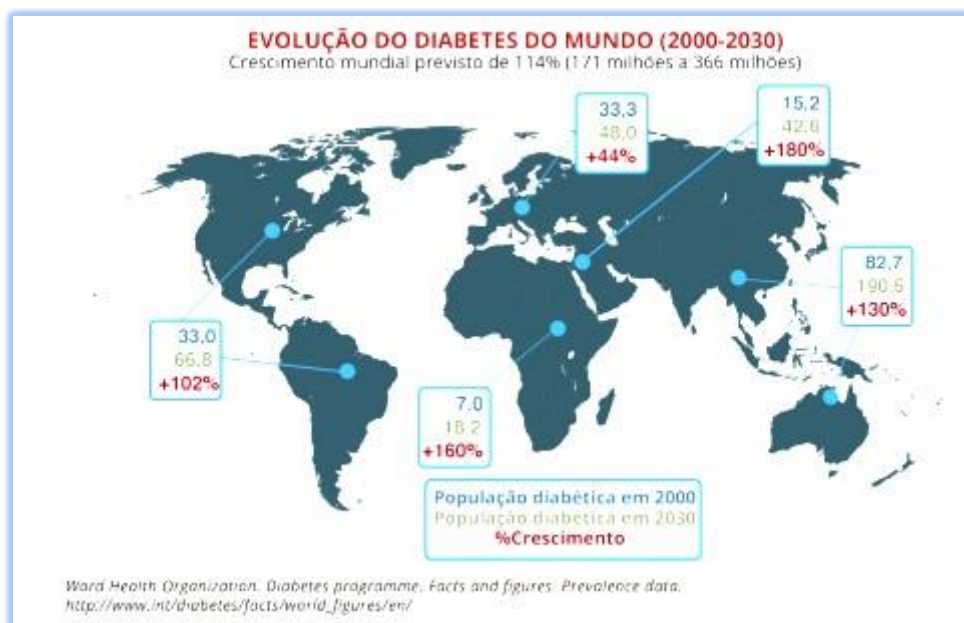
1.	INTRODUÇÃO .....	13
1.1.	Diabetes Mellitus .....	13
1.1.2.	Utilização de roedores para estudos de DMs.....	14
1.1.2.1.	Modelos Monogênicos e Poligênicos .....	15
1.1.2.2.	Biomodelos Induzidos à DM2 por Dieta .....	15
1.2.	Caminho percorrido para descoberta da Insulina .....	16
1.2.1.	Definição e Fisiopatologia.....	17
1.3.	Pâncreas Endócrino .....	19
1.4.	Homeostase Glicêmica .....	20
1.5.	Diabetes Mellitus Tipo 2.....	21
1.6.	Diagnóstico.....	22
1.6.1.	Glicemia de Jejum .....	23
1.6.2.	Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG).....	23
1.6.3.	Teste de Tolerância à Refeição Líquida.....	24
1.6.4.	Hemoglobina Glicada .....	25
1.7.	Toxicidade da Sacarose ou açúcar comum .....	25
2.	JUSTIFICATIVA .....	26
3.	OBJETIVOS .....	27
3.1.	OBJETIVO GERAL.....	27
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
4.	MATERIAL E MÉTODOS .....	27
4.1.	DESENHO EXPERIMENTAL .....	27
4.2.	AVALIAÇÃO DE A INGESTÃO ALIMENTAR, HÍDRICA E O CONSUMOCALÓRICO ..28	
4.3.	AVALIAÇÃO DA GLICEMIA E TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE .....	29
4.4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
5.1.	INDUÇÃO DE DM2 EM FÊMEAS C57BL/6 POR AÇÚCAR COMUM .....	29
5.1.1.	Avaliação do peso corporal.....	29
5.1.2.	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR, HÍDRICA E O CONSUMO CALÓRICO ..31	
5.2.	AVALIAÇÃO DA GLICEMIA E TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE .....	33
6.	DISCUSSÃO .....	33
7.	CONCLUSÃO.....	35
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) refere-se a um grupo heterogêneo de doenças metabólicas cujo achado frequente é o aumento dos níveis de glicose no sangue, resultante de alterações no mecanismo de ação e/ou secreção da insulina, promovendo um quadro de hiperglicemia generalizado (SBD, 2016; SBD, 2020; ADA, 2022). De acordo com a Associação Americana de Diabetes (ADA, 2019) existem 4 classificações da doença, são elas DM tipo 1 (DM1: tipo 1A e 1B), DM tipo 2 (DM2), Diabetes Mellitus Gestacional e a forma secundária à outras patologias.

Conforme dados estatísticos da Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 422 milhões de adultos em todo o mundo sofriam de DM em 2014 e espera-se um aumento contínuo na prevalência da doença. Um mapeamento da Federação Internacional de Diabetes em 138 países demonstrou que 1 em cada 11 adultos com idades entre 20 e 79 anos possuem diabetes, tornando a doença um problema de saúde pública mundial por afetar grande parte da população (IDF, 2021). Em 2017, o Brasil ocupava o quarto lugar no ranking mundial da diabetes com a estimativa de 12,5 milhões de diabéticos (IDF, 2017; SBD, 2020).



**Figura 1** - Evolução da diabetes no mundo entre 2000 e 2030 (OMS, 2020). Disponível em: [https://secure.unisagrado.edu.br/static/biblioteca/salusvita/salusvita\\_v36\\_n2\\_2017\\_art\\_15.pdf](https://secure.unisagrado.edu.br/static/biblioteca/salusvita/salusvita_v36_n2_2017_art_15.pdf). Acesso em: 21 de nov. 2022

A DM está inserida no grupo de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) que iniciam e evoluem de forma lenta. As DCNT são definidas como um grupo de distúrbios metabólicos que possuem múltiplas causas como fatores genéticos, fisiológicos, ambientais e comportamentais (BRASÍLIA, 2008; INCA, 2011 SANTA CATARINA, 2018; MALTA, *et al.*, 2018).

Acredita-se que o crescente aumento no número de indivíduos diabéticos está relacionado com o envelhecimento populacional, sedentarismo, obesidade e com a maior sobrevivência de pacientes diabéticos em tratamento contínuo (SBD, 2016; IDF, 2014).

A caracterização da hiperglicemia como fator preponderante da DM resulta de defeitos na ação e secreção da insulina, impossibilitando a entrada de glicose nas células para sua metabolização. Com a cronicidade, os altos níveis de glicose circulante causam uma glicotoxicidade que pode interferir na patogênese das micro e macro complicações em vários órgãos e tecidos, como coração, vasos sanguíneos, rins, fígado e pâncreas (KUMAR *et al.*, 2018, HARREITER; RODEN, 2019; SBD, 2020). Dentre as complicações microvasculares mais presentes em diabéticos estão a nefropatia, neuropatia, retinopatia e as macrovasculares são o infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença arterial periférica (EGAN; DINNEEN, 2018; MALTA, *et al.*, 2019; SBD, 2020).

### **1.1.2. Utilização de roedores para estudos de DMs**

Os roedores são os biomodelos mais utilizados em pesquisa no geral. Os modelos para estudos clínicos das DMs têm grande importância para entendimento da patogênese da doença, elucidando as complicações causadas pelas DMs e correlacionando seus as consequências similares as dos humanos, já que os mecanismos das DMs ainda não são totalmente compreendidos (HARWOOD; LISTRANI; WAGNER, 2016). A literatura cita modelos geneticamente modificados, monogênicos e poligênicos, além de modelos de *diet induced obesity* - DIO que são induzidos à condição da doença, podendo ser uma indução química, por medicamentos, ou uma indução através da dieta (FUCHS *et al.*, 2018).

Geralmente, a diabetes é investigada experimentalmente em animais. Dentre as espécies monogênicas podemos citar os camundongos *ob/ob*, *db/db*. Na classe dos poligênicos estão os ratos NZO e JCR:LA. Para modelos baseados nos métodos de indução da DM2 experimental são mostrados na literatura os ratos Wistar e BB e os camundongos C57BL/6, C57BL6/J. O NOD é utilizado para mutação genética

induzida que desenvolve a DM1 de forma similar a humanos. Porém as metodologias indutivas variam da química por medicamentos e as de adoção de dietas hipercalóricas ou hiperlipídicas, devido à sua semelhança com a gênese e às respostas metabólicas decorrentes da doença em humanos. A busca se dá pela linhagem que melhor desenvolva a doença, com os efeitos similares a evolução da DM2 em humanos (KOTTAISAMY *et al.*, 2021).

Cada modelo animal tem uma característica responsiva ao tipo de indução que culminará no estado de doença. Sendo assim, é sabido que algumas linhagens podem promover melhor a doença do que outras, se aproximando da melhor forma à síndrome metabólica dos humanos (NILSSON *et al.*, 2012).

#### **1.1.2.1. Modelos Monogênicos e Poligênicos**

Animais monogênicos possuem somente mutação em um gene, os poligênicos, têm mais de uma mutação. Ambos desenvolvem a DM2 espontaneamente. Como exemplo de monogênico, podemos citar o Ob/ob que possui uma mutação espontânea, não produzindo leptina, hormônio responsável pela saciedade. Sua maior característica é a hiperfagia. Atrelada ao desenvolvimento da doença, o animal demonstra obesidade e síndrome metabólica causando resistência a insulina, hiperglicemia, hipotireoidismo e hiperinsulinemia. A progressão da doença leva a apresentação de esteatose hepática. Geralmente a indução neste animal ocorre por exposição a um agente químico (LUTZ; WOODS, 2012). Segundo Nilsson e colaboradores (2012), este modelo não reflete bem a fisiologia humana, já que a maioria dos indivíduos obesos não apresenta a doença por deficiência de leptina, pelo contrário, este hormônio se apresenta em níveis elevados nos casos de obesidade (NILSSON *et al.*, 2012).

O db/db é fenotipicamente semelhante ao ob/ob se diferenciando na apresentação de altos níveis de leptina e hiperglicemia grave, demonstrando nível glicêmico em animais de sete semanas, em média, 700mg/dl, sem alteração de valor ao longo da vida. De acordo com Ramos-Rodriguez e colaboradores (2014), este modelo é eficaz para verificar e correlacionar a progressão da resistência à insulina até a instalação da diabetes clínica. Mas, estes animais não desenvolvem todas as alterações encontradas em humanos (RAMOS-RODRIGUEZ *et al.*, 2014). Entre os poligênicos na literatura levantada os ratos foram os mais citados.

#### **1.1.2.2. Biomodelos Induzidos à DM2 por Dieta**

Vários modelos animais têm sido citados na literatura como propensos a indução da DM2 por dietas ou fármacos. Porém, entre os roedores os camundongos C57BL/6 se tornam obesos e potencialmente hiperglicêmicos, desenvolvendo a condição obesa ao longo da vida mesmo sendo alimentados com dieta padrão (FUCHS *et al.*, 2018). Em 2016, Glastras *et al* apontaram a vantagem de utilizar a linhagem C57BL/6 como modelo experimental para síndrome metabólica e obesidade, devido a longa vida útil deste camundongo e a facilidade da tendência de consumo excessivo de HFD, o que faz mimetizar os pacientes humanos, além da suscetibilidade ao ganho de peso em comparação com outros modelos animais (GLASTRAS *et al.*, 2016)

Ademais, os camundongos C57BL/6 se tornam obesos e potencialmente hiperglicêmicos, desenvolvendo a condição obesa ao longo da vida mesmo sendo alimentados com dieta padrão (FUCHS *et al.*, 2018).

Quanto aos ratos, a linhagem Wistar, vem sendo bastante utilizada para estudos de obesidade induzida por dieta e tem demonstrado aumento de peso corporal. Por outro lado, resultados sobre alterações na insulinemia não são muito relevantes. Alguns animais desenvolvem o quadro, enquanto outros, não (KIMURA *et al.*, 2018).

## 1.2. Caminho percorrido para descoberta da Insulina

A diabetes foi descrita antes mesmo de ser descoberta a insulina. Historicamente, sua primeira descrição foi por Aretaeus, médico da antiguidade greco-romana, através da observação dos sintomas dos pacientes, como sendo uma doença que provocava muita sede e poliúria, se utilizando da cor e odor da urina como ferramentas para o diagnóstico. Naquela época acreditava-se que os rins eram a principal fonte do problema, já que ligavam todos os sintomas à frequência e grau de micção; além de ser classificada como uma doença rara, o que pode ter sido fundamentado pelo fato de que a dieta da população na Grécia antiga era pobre em gorduras e açúcares (BARNETT; KRALL, 2009), o que contrasta fortemente com a realidade do mundo atualmente.

Em 1921, o cirurgião canadense Frederick Banting (1891-1941) , auxiliado pelo estudante de medicina Charles Best e supervisionado por MacLeod, fizeram vários experimentos para tentar determinar a causa da DM.

Diversos pesquisadores, anteriormente, realizaram experimentos relatando que a diabetes estaria associada a uma “secreção interna” e não a secreção exócrina.



Até então não era sabido do que era composta e nem sua função. O objetivo era isolar a tal secreção interna produzida pelo pâncreas, para estudos mais aprofundados sobre sua ação e regulação.

Banting, com 29 anos de idade, convenceu o professor MacLeod, da Universidade de Toronto a conceder espaço e equipamentos de seu laboratório para que ele tentasse extrair hormônio pancreático de cachorros. A ideia original de Banting era extrair uma substância do pâncreas de cachorros depois de ligar os dutos pancreáticos. A escolha do animal se deu por estudos anteriores, já que em 1889 Joseph von Mering e Oscar Minkowski, médicos pesquisadores, perceberam que a urina dos cães atraía formigas. Ao analisar a amostra, verificaram que a mesma estava cheia de açúcar (TSCHOEDEL, 2016).

Apenas foi possível se obter sucesso, após extração total do pâncreas de vários cachorros de laboratório, para posterior injeção do “extrato bruto resultante” do que viria a ser denominado de insulina, a fim de demonstrar uma correção parcial do nível elevado de açúcar no sangue dessa espécie cujos pâncreas haviam sido removidos. Este experimento possibilitou que o jovem cirurgião chegasse ao preparado de insulina ideal para o tratamento humano, também demonstrando a importância da contribuição do uso de animais na pesquisa científica (BANTING; BEST, 2007). A partir de então, finalmente foi determinada a etiologia pancreática da diabetes. Este foi um marco memorável revolucionando o tratamento da doença que antes causava a morte de diversas pessoas.

### **1.2.1. Definição e Fisiopatologia**

A definição de DM2 é comum em todos os artigos publicados nos últimos 15 anos que foram levantados, relacionando a resistência à insulina com a perda progressiva de função das células beta pancreáticas e consequente deficiência na secreção de insulina. Além disso, o termo “síndrome metabólica” aparece na maioria dos estudos como uma desordem no metabolismo da glicose, ocasionada por múltiplos fatores combinados, como genes predispostos à doença e fatores ambientais (HARREITER; RODEN, 2019; CHATTERJEE; KHUNTI; DAVIES, 2017).

Harreiter e Roden (2019) citam estudos que sugerem uma nova subclassificação à DM2, a chamada *Cluster*, palavra em inglês que pode ser empregada em vários contextos (HARREITER; RODEN, 2019). O termo sugere aglomeração, algo que trabalha em conjunto, justamente pelo fato de que a disposição da DM2 não se prende a um fator primário específico e sim a um

aglomerado de fatores que culminam na efetivação da doença. Existem ainda, duas categorias, que são citadas como pré-diabetes, que são Tolerância da Glicose Diminuída e Glicemia de Jejum Alterada. (DIRETRIZES SBD, 2016).

Em 2010, Kaku publicou que a secreção de insulina prejudicada também torna reduzida a responsividade à glicose. Dessa forma, a fase pós-prandial pode se tornar uma condição fisiopatológica de glicolipototoxicidade, resultando na diminuição da massa funcional de células pancreáticas.

A Associação Americana de Diabetes, no ano de 2009, ressaltou sobre as manifestações clínicas iniciais da DM2, como tendo um início mais gradual, com uma progressão lenta dos níveis de glicose ao longo do tempo, sendo seu diagnóstico requerido de valores específicos para distinguir as concentrações patológicas da distribuição das concentrações de glicose na população não diabética.

Diversos estudos entre o período de 2010 e 2016 demonstraram dados estatísticos do aumento da prevalência da DM2 em crianças e adolescentes, descaracterizando este distúrbio metabólico de “doença do adulto”. Hoje, o índice de jovens diagnosticados com DM2 é alto e seguem os mesmos critérios diagnósticos e sintomatologia da doença no adulto. Bruns e Knowler (2009) destacaram a importância de estabilizar a glicose na amostra de sangue, pois a instabilidade não só classifica de forma errônea um paciente individualmente, mas também introduz ruídos epidemiológicos de notificação da doença.

Para DeFronzo *et al* (2015) a apresentação clínica, fisiopatologia e progressão da doença pode variar consideravelmente entre os pacientes, o que dificulta a classificação de DM2. De acordo com sua publicação, é possível que alguns indivíduos diabéticos se apresentem como assintomáticos, enquanto outros podem apresentar hiperglicemia grave ou até mesmo cetoacidose diabética. Além disso, a sintomatologia da diabetes autoimune latente do adulto pode ser mascarada com os sintomas clínicos iniciais da DM2.

Globalmente, muitos dos fatores de risco para DCNT estão relacionados ao estilo de vida e podem ser evitados. A Organização Mundial da Saúde, desde 2021, está urgindo os tomadores de decisão em saúde a desenvolver estratégias eficazes de prevenção para interromper a crescente tendência de DCNT, onde a DM se classifica, através do controle dos fatores de risco, enquanto problema de saúde pública.

Ao longo do levantamento bibliográfico foi possível observar que alguns autores trataram como intervenção para a prevenção de DM2, hábitos como atividade física, alimentação saudável e mudanças no comportamento. Wu e

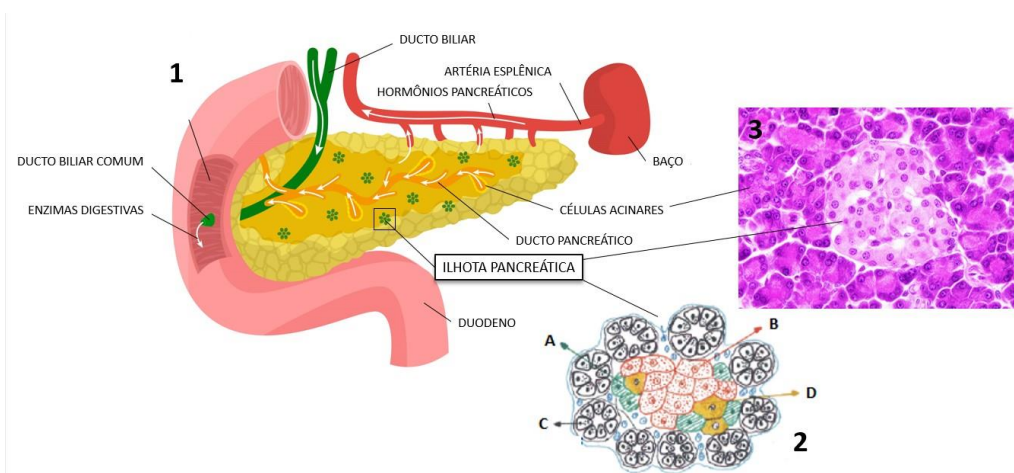
colaboradores demonstraram que a prática de atividades físicas podem reduzir de 30 a 50% dos casos de desenvolvimento da DM2 (WU *et al.*, 2014). FOROUHI e WAREHAM, 2010, também citam a dieta e atividade física como formas de prevenção primária no desenvolvimento da doença metabólica (FOROUHI; WAREHAM, 2010).

### 1.3. Pâncreas Endócrino

O pâncreas de um ser humano adulto saudável pesa aproximadamente 100g, tem comprimento de 14 a 25 cm possuindo uma forma lobular e alongada. Localiza-se no quadrante superior da parede abdominal, posteriormente ao estômago e é dividido em cinco partes anatômicas: cabeça, processo uncinado, colo, corpo e cauda (LONGNECKER; GORELICK; THOMPSON, 2018).

Este órgão é funcionalmente dividido em exócrino e endócrino. Aproximadamente apenas 2% da massa pancreática tem função endócrina, sendo composta pelas ilhotas de Langerhans (ou ilhotas pancreáticas) (**figura 2**) e seus vasos de irrigação. As ilhotas se encontram envoltas por ácinos, unidade histológica responsável pela secreção exócrina, e são formadas por quatro tipos principais de células:  $\alpha$  (alfa),  $\beta$  (beta),  $\delta$  (delta) e PP (YOUNG, 2014; KUMAR, *et al.*, 2018).

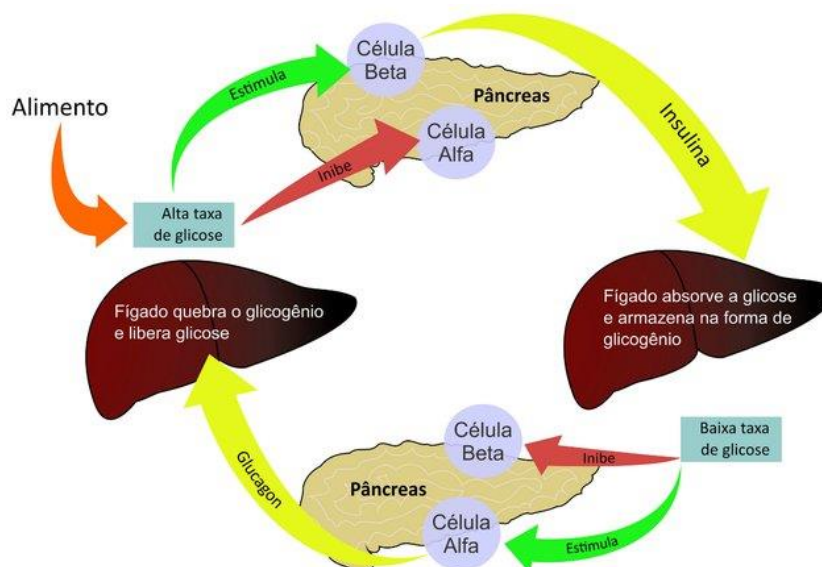
As células  $\beta$  secretam insulina, sendo responsável pela regulação da glicose no sangue após alimentação e compõem 75% da massa endócrina, localizando-se no centro da ilhota e são circundadas pelas células  $\alpha$  e  $\delta$ . As células  $\alpha$  compõem 20% da massa endócrina e secretam glucagon que aumenta os níveis de glicose no sangue, sendo um regulador negativo da insulina. Já as células  $\delta$  compõem 5% da massa endócrina e secretam somatostatina, que apresenta um papel importante de regulação de insulina e glucagon simultaneamente, para estabelecimento da homeostase do metabolismo de glicose. As células PP secretam o Polipeptídeo Pancreático (GUYTON *et al.*, 2012; KOEPPEN; STANTON, 2009).



**Figura 2.** Esquema ilustrativo do pâncreas. 1. Ilustração anatômica do pâncreas e suas porções endócrina e exócrina. 2. Ilustração das células pancreáticas (A - células alfa; B - células beta; C - ácinos pancreáticos; D - células delta). 3. Imagem histológica do pâncreas corado por hematoxilina e eosina. (Adaptado de Fisiologia das Ilhotas de Langerhans. Guyton *et al.*, Fisiologia Médica, 2012).

#### 1.4. Homeostase Glicêmica

A regulação da homeostase glicêmica é complexa e relaciona mecanismos neurais e hormonais. O controle da glicemia se inicia pela absorção intestinal do alimento e seu posterior declínio, produzindo substratos energéticos a partir da glicogenólise e da gliconeogênese hepática, regulados pela ação dos hormônios insulina e glucagon. Interferências nesse mecanismo regulatório provocam complicações associadas à falta ou excesso de glicose.



**Figura 3.** Esquema da regulação da taxa de glicose sanguínea. Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/glucagon/>

## 1.5. Diabetes Mellitus Tipo 2

Em 2015, a prevalência global de pessoas com DM2 era de aproximadamente 8,8%, com projeção para 10,4% em 2040, de acordo com a Federação Internacional de Diabetes (IDF, 2020).

Clinicamente, a DM2 é heterogênea e pode estar associada ao grau de obesidade. Do ponto de vista fisiopatológico, pessoas com DM2 demonstram sistematicamente, três anomalias fundamentais: resistência à ação da insulina nos tecidos periféricos, principalmente no músculo, fígado e o tecido adiposo; secreção insulínica imperfeita, particularmente em resposta ao estímulo da glicose e um aumento da produção de glicose pelo fígado (ROSINI, et al., 2012; WU *et al.*, 2014).

A resistência à insulina ou sua produção prejudicada resulta no aumento dos níveis de glicose no sangue. Para compensar o estado de resistência, o pâncreas aumenta sua massa celular na tentativa de expandir a produção de insulina para que conseqüentemente, secrete um maior volume. Se este mecanismo de compensação falha, há o desenvolvimento da DM2, diretamente classificada pelo estágio de hiperglicemia (MONTENEGRO *et al.*, 2016).

A progressão da doença torna a secreção de insulina incapaz de manter a homeostase da glicose, promovendo um quadro de hiperglicemia. Em outras palavras, a DM2 é o resultado de uma resposta ineficaz do corpo à insulina produzida. À medida que a doença progride, a deficiência de insulina também se estabelece (LOVIC *et al.*, 2020). Existe uma zona de transição para a doença que parte da normoglicemia para a DM e é frequentemente caracterizada como “Tolerância à Glicose Prejudicada” (*IGT - Impaired Glucose Tolerance*) ou “Glicemia de Jejum Prejudicada” (*GJP*). Estas condições são geralmente reconhecidas como precursoras de DM2, uma vez que se estima que cerca de 1 em cada 4 indivíduos com *IGT/GJP* obrigatoriamente irá progredir para DM dentro de um período de 3-5 anos (LOVIC *et al.*, 2020).

Na condição obesa, o aumento da massa do tecido adiposo promove a resistência à insulina (RI) através de vários processos inflamatórios que induzem determinados mecanismos, incluindo aumento da liberação de ácidos graxos livres (AGL) e desregulação de adipocinas. Os principais impulsionadores da epidemia de DM2 são o aumento global da obesidade, estilos de vida sedentários, dietas altamente calóricas e envelhecimento populacional (CHATTERJEE; KHUNTI; DAVIES, 2017).

Por resultado de um processo diabético e seus efeitos deletérios, é sabida a existência de um trauma pancreático. Estudos recentes demonstraram que a elevação aguda da glicose no sangue prejudica a vasodilatação e consequentemente as funções endoteliais dos indivíduos (KANTER; BORNFELDT, 2022). O aumento dos níveis de glicose no sangue após uma refeição induz a produção e secreção de insulina pelas células  $\beta$  das ilhotas. A ligação de insulina ao receptor de insulina presente nas membranas celulares induz a translocação do transportador de glicose (GLUT) para a membrana celular e aumenta a captação de glicose pelas células, resultando em diminuição dos níveis de glicose no sangue. Uma falha do pâncreas em produzir insulina suficiente, a ação inadequada da insulina ou ambos, resulta em hiperglicemia. Isso está associado a danos e falhas de vários órgãos e tecidos a longo prazo (ATLINSON *et al.*, 2020).

A resposta imune ocasionada por altos níveis de glicose no sangue resulta em uma resposta inflamatória. A presença de mediadores inflamatórios produzidos por adipócitos e macrófagos no tecido adiposo permeiam uma inflamação *in situ* de característica baixa e crônica que danifica as células  $\beta$  pancreáticas, levando à de produção de insulina insuficiente. (BERBUDI *et al.*, 2020).

## 1.6. Diagnóstico

Como a maioria dos casos de pré-diabetes ou diabetes é assintomático, o diagnóstico desta doença é feito majoritariamente com base em exames laboratoriais (SBD, 2020).

O diagnóstico é pautado em pesquisa de hiperglicemia, que incluem os exames de glicemia em jejum; glicose plasmática de 2 horas (GP 2h) durante um TOTG a 75g e hemoglobina glicada (HbA1c) (SBD, 2020; ADA, 2022).

Exame	Normal	Pré-diabetes	Diabetes
Glicemia de jejum (mg/dL)	< 100	100 a 125	≥ 126
Glicemia 2 horas após TOTG com 75 g de glicose (mg/dL)	< 140	140 a 199	≥ 200
Hemoglobina glicada (%)	< 5,7	5,7 a 6,4	≥ 6,5

TOTG: teste oral de tolerância à glicose.

**Quadro 1.** Valores de referência de exames para diagnósticos de normoglicemia, pré-diabetes e DM. Disponível em: <<https://crbm5.gov.br/diabetes-conheca-os-exames-para-diagnostico-e-controle-da-doenca/>>. Acesso em: 12 de dez. 2022.

Berlitz,2010, estabeleceu uma análise a respeito do desempenho da variedades de instrumentos e métodos de laboratório clínico que medem a glicose,

revelando que 41% dos instrumentos têm um viés significativo em relação ao método de referência, fator que resultaria em erros potenciais de classificação maiores que 12% nos resultados dos pacientes (BERLITZ, 2010). Existe também a relação de erros pré-analíticos devido ao manuseio da amostra. Mesmo quando as amostras de sangue total são coletadas em fluoreto de sódio para inibir a glicólise *in vitro*, o armazenamento em temperatura ambiente por até 4 horas anteriores a análise, já condiciona alteração e redução nos níveis de glicose em indivíduos não diabéticos, podendo ser de 3 a 10 mg/dl de modificação (BRUNS; KNOWLER, 2009).

### **1.6.1. Glicemia de Jejum**

A DM2 foi diagnosticada com base na glicemia de jejum e glicemia oral até o ano 1997, aproximadamente. Após esse período, novas estratégias começaram a ser introduzidas com o objetivo de trazer mais confiabilidade ao diagnóstico (SBD, 2021).

A medição da glicose é menos precisa do que a maioria dos exames, já que o teste de glicemia de jejum é um método com sensibilidade, mas com baixa reprodutibilidade (LAGES *et al.*, 2022).

Para quantificar a glicose no sangue, é necessário que o paciente esteja em jejum de no mínimo 8 horas no momento da coleta da amostra sanguínea, ainda assim o valor pode sofrer alteração por influência de fatores de curto prazo, como estresse e exercício físico (SEQUEIRA; POPPITT, 2017).

No relatório do comitê internacional da ADA em 2009, foi publicado que a DM2 tem um início mais gradual, com aumento lento dos níveis de glicose ao longo do tempo, e seu diagnóstico requer valores específicos de glicose para distinguir as concentrações patológicas de glicose da distribuição das concentrações na população não diabética. Praticamente todas as composições para a classificação e diagnóstico de diabetes nos tempos modernos baseiam-se na aferição das concentrações de glicose no sangue ou soro, em amostras estabelecidas como glicemia em jejum; em amostras casuais independente do estado prandial; ou após um teste de estresse metabólico padronizado, como o teste oral de tolerância à glicose.

Os valores considerados de referência para os estados de normoglicemia, pré-diabetes e diabetes estão demonstrados acima no Quadro 1.

### **1.6.2. Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG)**

O TOTG é considerado o método de referência para diagnosticar a DM2 e

definir as categorias de intolerância à glicose que resultam do nível de glicose no sangue acima do normal na ausência de diabetes mellitus já estabelecida (ADA, 2022). Os pontos de corte permitem a detecção das condições intermediárias entre tolerância normal à glicose e a glicemia de jejum prejudicada. Este teste foi padronizado pela administração de uma solução de glicose contendo o equivalente a 75 g de açúcar dissolvido em água e permite avaliação da glicemia após sobrecarga, que pode ser a única alteração detectável no início da DM, refletindo a perda de primeira fase da secreção de insulina (SBD, 2020). Para triagem da diabetes, a glicose plasmática de 2 horas após o TOTG é mais precisa dos testes e ajuda no diagnóstico quando há discordância entre os valores de HbA1c e glicemia de jejum (ADA, 2022).

### **1.6.3. Teste de Tolerância à Refeição Líquida**

O uso de um único biomarcador para detectar os distúrbios de glicose traz limitações ao diagnóstico, incluindo sensibilidade, especificidade e precisão mais baixas (BARRY *et al.*, 2017). O teste de HbA1c, apesar de oferecer resultados mais precisos que o teste de glicemia de jejum, possui interferentes como etnia que apresenta variantes de hemoglobina, além de outras condições clínicas.

Considerando que a glicose líquida pode ser rapidamente absorvida estimulando a liberação de insulina, é induzido um processo de falsa hipoglicemia reativa, associada a reações adversas e sintomas gástricos, que não demonstram o comportamento usual de glicose e as respostas de insulina nas condições das reações metabólicas do dia a dia, descevedo o TOTG. Do ponto de vista clínico, a incidência de hipoglicemia é importante e os relatos de alterações cardíacas observadas em exame cardiográfico que ela induz (DESOUZA *et al.*, 2003). Dessa forma, alguns autores destacaram para a atenção ao realizar um TOTG em pacientes com doença cardíaca coronariana, podendo substituir a tradicional bebida à base de glicose por um exame de refeição mista padrão. Essa ação pode ser benéfica para os pacientes, além de fornecer a semelhança clínica na homeostase da glicose. Não há diferenças consideráveis em relação ao preparo do paciente para realização de ambos os testes. O teste de refeição mista. fornece um estímulo mais fisiológico para secreção de insulina, o que pode ser vantajoso do ponto de vista clínico, por apresentar algumas vantagens na triagem de distúrbios de glicose e insulina. Os pacientes também se beneficiam por realizar um teste mais agradável e palatável com potencialmente menos efeitos colaterais (LAGES *et al.*, 2022).



#### 1.6.4. Hemoglobina Glicada

No ano de 2009, foi proposta pelo Comitê Internacional de Especialistas em Diabetes, a utilização de hemoglobina glicada (HbA1c) para o diagnóstico da DM, tendo em vista que esta é uma fração da hemoglobina (Hb) produzida a partir de reações enzimáticas entre hemoglobina e glicose, na presença de hiperglicemia prolongada. Assim, quanto mais elevadas as taxas de glicose livre no sangue, maior a proporção de HbA1c (IDF, 2009)

O exame de HbA1c não necessita jejum para ser realizado, tem a vantagem de estimar a média da concentração de glicose no sangue nos últimos 60 a 90 dias, diferentemente da glicemia de jejum ou do teste de tolerância à glicose, que medem em momentos específicos. A OMS e a ADA recomendam o valor de HbA1c  $\geq 6,5\%$  para considerar o diagnóstico como DM (ADA; OMS, 2020)

Para a realização do teste de hemoglobina glicada, efetua-se a coleta do sangue periférico em tubo de EDTA e sua dosagem é feita por cromatografia líquida de alta performance por troca iônica (*high pressure liquid chromatography - HPLC*) (GONZALEZ *et al.*, 2020).

#### 1.7. Toxicidade da Sacarose ou açúcar comum

Atualmente vivemos uma pandemia de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) e a DM2 faz parte dessas doenças metabólicas em ascensão, por isso, é importante identificar sua origem e diversos motivos têm sido discutidos nos últimos anos (NAGHAVI *et al.*, 2017).

Os alimentos ultra processados possuem em sua formulação industrial 5 ou mais ingredientes, contendo alta concentração de açúcares, gorduras e componentes químicos utilizados como conservantes, corantes e flavorizantes (MS, 2014) impulsionam a prevalência e o estabelecimento das DCNT mundialmente (LUSTIG, 2020). A qualidade da comida ingerida é levantada como causa de muitos transtornos metabólicos e não metabólicos. O açúcar adicionado, geralmente frutose, sacarose ou xarope de milho rico em frutose, são componentes que prevalecem na composição desse tipo alimentar (JUUL *et al.*, 2018).

A indústria alimentícia propaga o argumento de que a quantidade que se come é que influencia a propensão a doenças, não a qualidade dos alimentos (LAGES *et al.*, 2022). Segundo Ziauddeen, Farooqi e Fletcher, a quantidade é determinada pelo

usuário final, uma questão de responsabilidade; enquanto que a qualidade é determinada pelos fabricantes, tornando-se então uma questão de saúde pública (ZIAUDDEEN; FAROOQI; FLETCHER, 2012)

O consumo em excesso de frutose e sacarose através da alimentação, que ultrapassa a capacidade do fígado de metabolizar, é transformado em gordura, promovendo então resistência à insulina. Fisiologicamente, a administração crônica de frutose promove hiperinsulinemia em jejum e hipertrigliceridemia (RORABAUGH; STRATFORD; ZAHNISER, 2015).

Os padrões alimentares se adaptam ao estilo de vida que a população permeia. O alto consumo de fast foods, bebidas adoçadas e carboidratos refinados, concomitante a redução do consumo de alimentos considerados saudáveis, como frutas, vegetais e produtos lácteos com a falta de autoavaliação dietética, causam a promoção do fator denominado transição nutricional. Este, estabelece a associação entre má alimentação e estilo de vida sedentário à promoção de doenças, tal qual a diabetes mellitus tipo 2 (SZYPOWSKA; REGULSKA-ILOW, 2019)

## **2. JUSTIFICATIVA**

Estatisticamente a DM2 representa 90-95% dos casos de diabetes, no Brasil e mundo, sendo uma doença que congestionada a rede pública de saúde. Deste modo, termos um modelo animal DM2 a partir da ingestão da sacarose ou açúcar comum de forma crônica possibilitou demonstrar informações atualizadas à literatura sobre a doença por indução hipercalórica. Este permitirá conhecer através de estudos moleculares a patogênese da doença relacionando a ingestão constante da sacarose, como tem sido propagado como uma das principais causas de DM2, se não a principal. Os portadores da doença têm qualidade de vida diminuída e nas últimas décadas, tem crescido ainda mais a prevalência da diabetes em decorrência também de maior taxa de urbanização e envelhecimento populacional. Paralelamente a industrialização refletida também na alimentação, com a maior introdução de alimentos hipercalóricos na dieta, sedentarismo e obesidade (OMS, 2020). Acrescido ao fato de 50% dos pacientes com diabetes permanecem sem diagnóstico e cerca de 20-30% geralmente desenvolveram complicações antes de chegarem a ser diagnosticados (OMS, 2021). Entender melhor os mecanismos moleculares relacionados a DM2 sinalizará para a produção de alternativas ao tratamento.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Investigar e descrever a clínica da DM2 experimental induzida por sacarose ou açúcar comum, mais os parâmetros e técnicas mais recentes utilizados para o seu diagnóstico. Ademais, contribuir com o entendimento sobre a gênese da diabetes até os dias atuais, avaliar a representatividade dos camundongos C57BL/6 fêmea como o melhor biomodelo.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar de forma criteriosa a bibliográfica referente a DM2 durante 15 anos;
- Induzir DM2 em camundongos C57BL/6 fêmeas e:
  - Avaliar o peso corporal;
  - Mensurar o consumo semanal de ração e água;
  - Avaliar a ingestão calórica acumulada;
  - Aferir mensalmente a glicemia;
  - Verificar a tolerância à glicose.

### 4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1. DESENHO EXPERIMENTAL

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense (CEUA UFF) sob o número 6722210119 (**Anexo1**).

Foram utilizados como modelo experimental camundongos fêmeas com 8 semanas de idade da linhagem C57BL/6 fornecidos pelo Núcleo de Animais de Laboratório (NAL) e mantidos no Biotério Experimental do Instituto de Biologia, UFF. O local apresenta ar ambiente controlado por exaustores e condicionadores de ar com temperatura média de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas. Ademais, as proporções de água e ração foram controladas.

Durante o período experimental, os animais foram divididos em dois grupos com 5 animais e para eles foram ofertadas as seguintes dietas, considerando o dia 0 (zero) o início da suplementação:

- Grupo 1: ração comercial e água com açúcar branco comum ou sacarose, na concentração de 40% *ad libitum*.
- Grupo 2: ração comercial e água *ad libitum*.

Os camundongos foram tratados ao longo de 30 semanas e se alimentaram da ração comercial Nuvilab Cr-1 (NUVITAL®) fornecida pela Universidade Federal

Fluminense. O peso dos animais e a quantidade de ração e água ingeridos foram quantificados 1 vez por semana, a glicemia mensalmente e por último, na 30ª semana o teste oral de tolerância à glicose, em seguida, foram eutanasiados.

#### 4.2. AVALIAÇÃO DE A INGESTÃO ALIMENTAR, HÍDRICA E O CONSUMO CALÓRICO

Semanalmente, foi ofertado aos animais do G1, grupo experimental, 300ml de solução a 40% de sacarose em água filtrada e esterilizada. Para o G2, grupo controle, foi ofertado 300ml de água filtrada e esterilizada apenas. Ambos os grupos 1 e 2 recebiam 186g de ração comercial Nuvilab Cr-1 (NUVITAL®).

A cada troca semanal das gaiolas dos animais, era medido o volume que restou de água nos bebedouros, bem como pesado o que restava de ração nos comedouros.

Para o cálculo de a ingestão alimentar acumulada (IAA) e ingestão hídrica acumulada (IHA) levou-se em consideração a soma dos valores de ingestão de ração e água, contendo açúcar ou não, ao longo do estudo, mais a divisão pelo número de animais residentes da gaiola. Dessa forma, gerando a quantidade de ração/água ingerida por animal [IAA=  $\Sigma$  do consumo de ração ao longo do experimento (g) / número de animais na gaiola]; [IHA=  $\Sigma$  do consumo de água ao longo do experimento (ml) / número de animais na gaiola].

A ingestão calórica acumulada (ICA) foi calculada por meio da multiplicação das quantidades totais ingeridas de carboidratos, proteínas e lipídios pelos fatores 4, 4 e 9, respectivamente, e em seguida pela soma desse resultado. E assim como os valores de IAA e IHA, a ICA foi dividida pelo número de animais residentes da gaiola. Os valores destes macronutrientes, quando presentes, foram retirados do rótulo da ração comercial Nuvilab CR-1 (NUVITAL®) (Quadro 2) e do açúcar comum (Quadro 3) sendo expressos em kcal.

<b>Informação nutricional</b>		
<b>Porção de 100g</b>		
Quantidade por porção		%VCT*
Valor energético	339 kcal = 1418 kJ	100,0%
Carboidratos	54 g	63,4 %
Proteínas	22 g	25,9 %
Lipídios	4 g	10,6 %
* % do valor calórico total.		

**Quadro 2.** Informações nutricionais da ração comercial Nuvilab CR-1 (YOSHIMURA, 2014).

Porção - 5g	Quantidade	%VD*
Valor energético	20kcal	1%
Carboidratos	5g	2%

**Quadro 3.** Informações nutricionais do açúcar comum (União, 2022).

### 4.3. AVALIAÇÃO DA GLICEMIA E TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE

As cinco fêmeas de camundongos C57BL/6 com 8 semanas do experimento, sendo G1 bebendo água suplementada com sacarose ou açúcar comum, e as cinco controles, G2, bebendo água sem suplemento, tiveram sua glicemia pontual aferidas mensalmente, durante 30 semanas. Para isto, foi utilizado o glicosímetro da marca G Tech com uma gota de sangue periférico coletado da cauda.

A avaliação da tolerância a glicose (ATG) foi realizada na 30ª semana, após jejum de 6 horas, por meio de gavagem com 500  $\mu$ l de solução de D-glicose (2g/kg de peso corporal). As amostras de sangue foram coletadas antes da introdução gástrica da solução e nos minutos 30, 60 e 120 após a administração, foi realizada novamente aferição glicêmica (ADA, 2022).

### 4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo programa estatístico GraphPad Prism 7.04 e expressos como média  $\pm$  desvio padrão (DP). Para determinar o nível de significância, foi utilizado o teste t-student não pareado e teste t múltiplo admitindo como diferença significativa somente valores de  $p \leq 0,05$ .

Os experimentos foram realizados nos anos de 2019 e 2022 e tiveram seus resultados somados.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. INDUÇÃO DE DM2 EM FÊMEAS C57BL/6 POR AÇÚCAR COMUM

#### 5.1.1. Avaliação do peso corporal

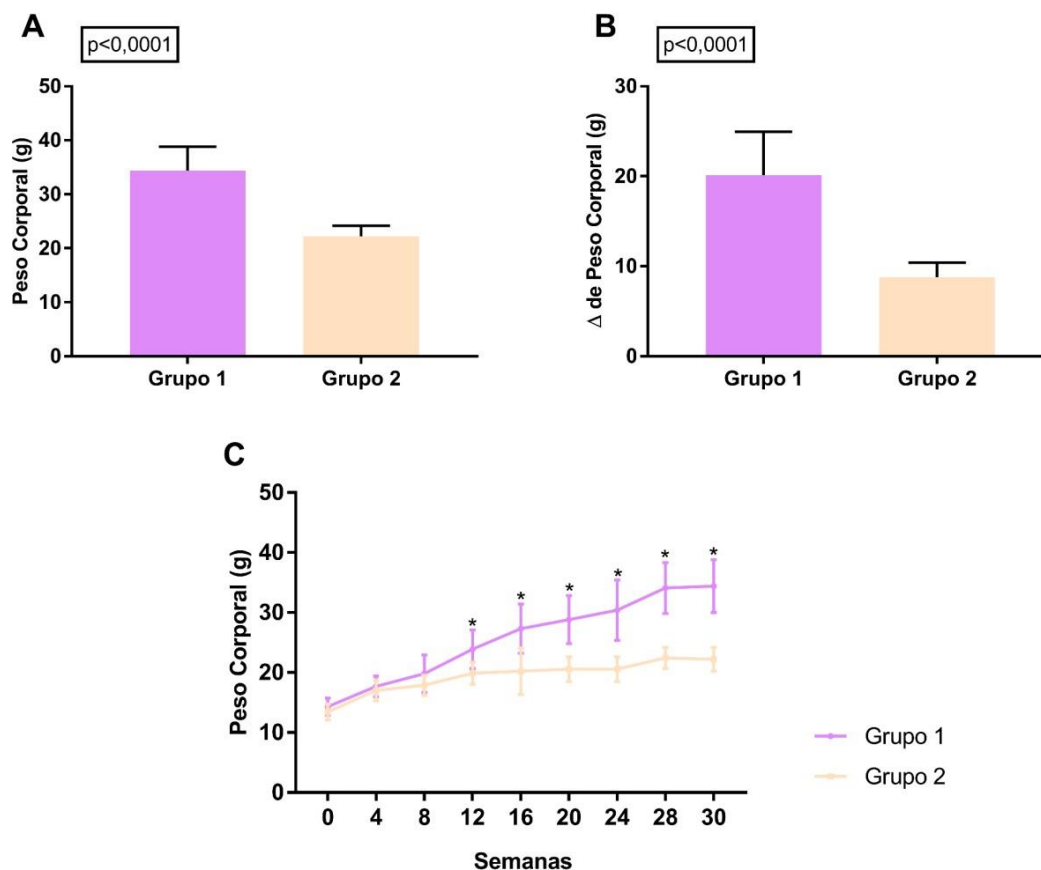
As fêmeas de camundongos C57BI/6 utilizadas para indução da DM2 por suplementação com 8 semanas de idade durante 30 semanas, desenvolveram

obesidade Para verificação do peso, passavam por pesagem quinzenalmente ao longo das 30 semanas de experimentação (Figura 4). Na figura 4A foi demonstrado estes valores graficamente. Os animais do G1 apresentaram variação de peso, a média do peso final dos grupos (Figura 4A, Grupo 1:  $34,4 \pm 4,40$ g; Grupo 2:  $22,2 \pm 1,99$  g,  $p < 0,0001$ ). Para examinarmos como a ingestão de açúcar impacta no peso corporal ao longo do tempo, montamos um gráfico temporal (Figura 4C) que apresenta significância estatística a partir da 12<sup>a</sup> semana de experimentação. Os dados de média  $\pm$  desvio padrão (DP) e p valor da figura 4C estão descritos na tabela abaixo (Tabela 2).

Para avaliarmos a variação do peso corporal entre o início e o fim do estudo, fizemos o cálculo do  $\Delta$  do peso corporal ( $\Delta$ PC). Os animais do G1 tiveram um ganho de peso corporal de  $20,1 \pm 4,86$  g e os do G2 de  $8,78 \pm 1,64$  g. Quando comparados, estes valores foram significativos com  $p < 0,0001$  (Figura 4B).

Semanas	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	p valor
0	$14,3 \pm 1,42$	$13,4 \pm 1,33$	0,1945
4	$17,7 \pm 1,70$	$17,0 \pm 1,73$	0,3872
8	$19,8 \pm 3,12$	$17,9 \pm 1,69$	0,1211
12	$23,9 \pm 3,21$	$19,9 \pm 1,83$	0,0043
16	$27,3 \pm 4,08$	$20,2 \pm 3,87$	0,0012
20	$28,8 \pm 3,99$	$20,6 \pm 2,07$	$<0,0001$
24	$30,4 \pm 5,04$	$20,6 \pm 2,07$	$<0,0001$
28	$34,1 \pm 4,23$	$22,4 \pm 1,74$	$<0,0001$
30	$34,4 \pm 4,40$	$22,2 \pm 1,99$	$<0,0001$

**Tabela 2.** Peso corporal das fêmeas C57BL/6 suplementadas com açúcar comum ao longo das 30 semanas de tratamento. Grupo 1, água com 40% no volume total de 300ml. Grupo 2, fêmeas controles, água sem suplementação, volume total 300 ml.



**Figura 4.** . Camundongos fêmeas C57Bl/6 suplementados ou não com açúcar comum durante 30 semanas. Grupo 1, suplementadas com açúcar comum. Grupo 2, sem suplementação. (A) Peso corporal, (B) Delta do peso corporal, (C) Peso corporal ao longo das semanas de experimentação. Avaliação dos valores da média  $\pm$  DP nos animais dos grupos 1 (n=10) e 2 (n=9). Valor de p referente ao teste t-student não pareado ou teste t múltiplo, \*  $p < 0,05$ .

### 5.1.2. AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR, HÍDRICA E O CONSUMO CALÓRICO

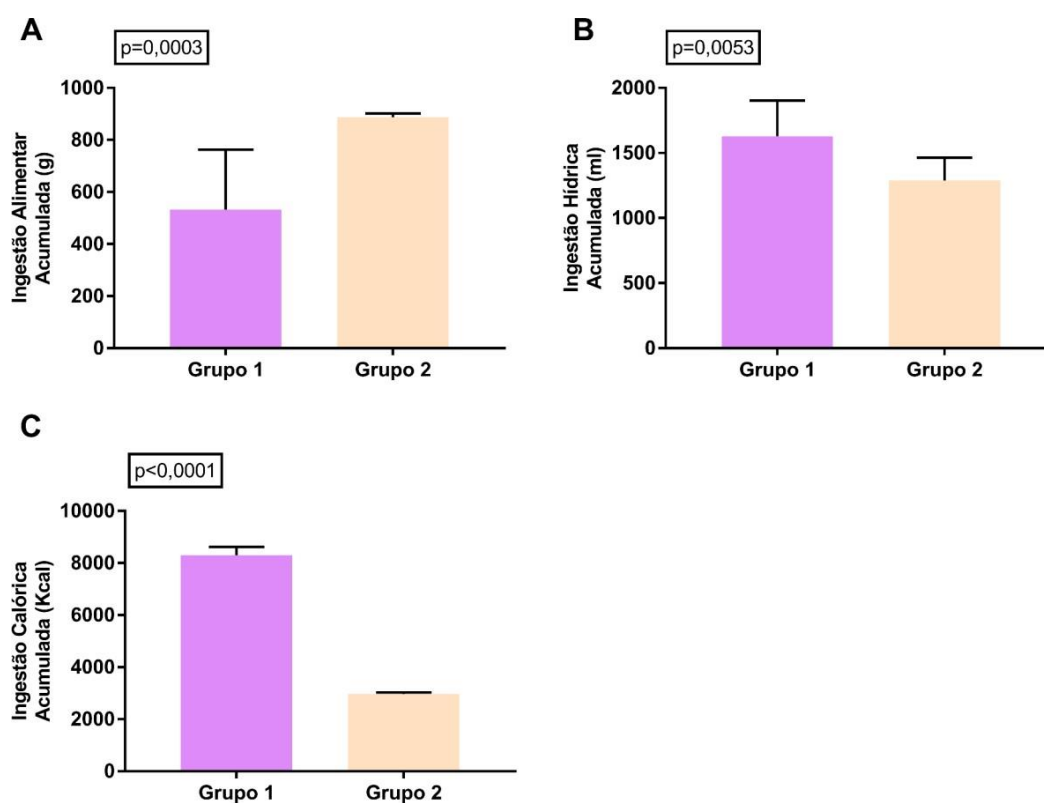
As fêmeas de C57Bl/6 do G1 foram mantidas em suplementação por diluição do açúcar comum a 40% em água e os animais do G2 receberam somente água. Semanalmente a ingestão de água de ambos os grupos foi quantificada na forma de ingestão hídrica acumulada, observamos que os camundongos do G1 ingeriram mais água do que os do G2 (Figura 5B, G1:  $1630,0 \pm 272,9$  ml; G2:  $1290,0 \pm 174,2$  ml,  $p = 0,0053$ ). A hipótese para o maior consumo de água do G1 pode ter sido devido ao fato de que a glicose da corrente sanguínea é a principal fonte de energia para o cérebro. Logo, a sua alta disponibilidade em termos de ingestão, além da necessidade energética, estimula a liberação de dopamina e circuitos de recompensa das áreas corticais. Isso impulsiona o comportamento alimentar, tornando o açúcar mais palatável ligado ao prazer pela comida, neste caso, pela água suplementada (HOCH;PISCHETSRIEDER; HESS, 2014).

Para verificar o consumo de ração, pesamos o restante do comedouro todas

as semanas, considerando a semana 0 quando os animais iniciaram a suplementação. A cada semana era ofertada a eles a quantidade de 186g de ração comercial. Na quantificação foi possível perceber um padrão alimentar quando realizado o cálculo de ingestão alimentar acumulada (IAA). Os animais do G1 que beberam a água adoçada, comeram menos ração do que os animais do G2, aproximadamente 35% menos. Como mostrado no gráfico 5A, a IAA teve resultados significativos e individualmente os camundongos do G1 ingeriram em média 531,8 g, enquanto os do G2 consumiram 886,7 g de ração. O açúcar como fonte energética traz saciedade e possui alto teor calórico (VOLKOW; WANG; BALER, 2011). Dessa forma, os animais controles que não receberam suplementação, buscaram na ração a fonte energética por não receberem água com açúcar.

Para verificarmos a ingestão calórica acumulada, fizemos o cálculo dos animais de ambos os grupos experimentais. Para este cálculo levamos em consideração o consumo de ração e ingestão hídrica.

Os animais do G1 consumiram, somando a ração e a água adoçada com açúcar comum,  $8307 \pm 314$  kcal; e os do G2,  $2974 \pm 52,88$  kcal. Aproximadamente, os animais do G1 têm um consumo calórico 64,2% maior que o outro grupo, o que reflete no ganho de peso corporal.



**Figura 5.** Camundongos fêmeas C57Bl/6 suplementadas ou não com açúcar comum durante 30 semanas. Grupo 1, suplementadas com açúcar comum. Grupo 2, sem (suplementação). **(A)** Ingestão alimentar acumulada, **(B)** Ingestão hídrica acumulada, **(C)** Ingestão



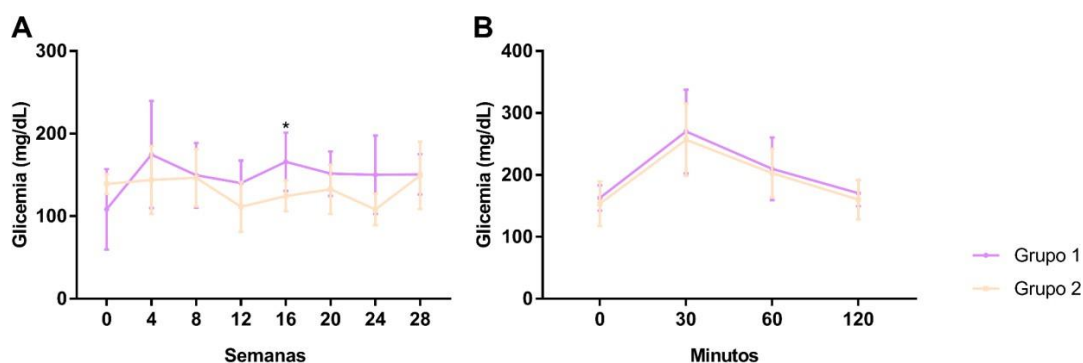
calórica acumulada. Avaliação dos valores da média  $\pm$  DP nos animais dos grupos 1 (n=10) e 2 (n=9). Valor de p referente ao teste t-student não pareado.

## 5.2. AVALIAÇÃO DA GLICEMIA E TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE

Para observar o efeito do açúcar comum, foi avaliado mensalmente a glicemia pontual dos animais utilizando um glicosímetro e desta forma, apresentamos os valores de ambos os grupos G1 E G2 suplementado com açúcar e não suplementado, respectivamente, no gráfico 6A. Quando avaliado por meio do teste t de múltiplo, somente a semana 16 apresentou diferença estatística (G1:  $165,8 \pm 35,2$  mg/dL; G2:  $124,4 \pm 18,66$  mg/dL,  $p=0,0059$ ). A aferição do teste oral de tolerância à glicose (TOTG, Figura 6B) não teve significância estatística.

Os animais demonstraram ao longo das 30 semanas de suplementação com açúcar comum *ad libitum* uma tendência a estarem diabéticos tipo 2, porém apenas foi possível constatar a pré-diabetes. Na 16 a estavam diabéticos, mas retornaram a aferições correspondentes a pré-diabetes (DOMINGUES; 2018).

Uma possibilidade é referente ao stress semanal ao qual eram submetidos, com a retirada das caixas do rack e até mesmo a estresse do momento da coleta da glicemia, entretanto, esta linhagem geneticamente apresenta um perfil de estresse.



**Figura 6.** Camundongos fêmeas C57Bl/6 suplementadas ou não com açúcar comum durante 30 semanas. G1, suplementadas com açúcar comum. G2, sem suplementação. **(A)** Glicemia ao longo das semanas de experimentação, **(B)** Teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Avaliação dos valores da média  $\pm$  DP nos animais dos grupos 1 (n=10) e 2 (n=9). Valor de p referente ao teste t múltiplo, \*  $p<0,05$ .

## 6. DISCUSSÃO

A DM2 é uma síndrome metabólica que pode ser, geralmente, acompanhada por acúmulo ou excesso de tecido adiposo. Nossos achados clínico e anatomopatológico corroboram com os de Sato et al, 2009, porém eles utilizaram dieta rica em gordura para induzir camundongos C57BL/6 à obesidade,

manifestando ganho de peso corporal, hiperglicemia e fígado gorduroso, esteatose hepática, ao longo de 4 meses em exposição à dieta hiperlipídica. Os autores submeteram outro grupo de camundongos C57BL/6, no mesmo estudo, à uma dieta hiperlipídica, mas relataram que apenas foram observadas alterações significativas na indução hiperlipídica. Em nossos experimentos com a mesma linhagem C57BL/6, induzimos com suplementação de sacarose em água uma dieta hipercalórica. Sendo que as alterações encontradas demonstraram que este modelo também foi responsivo ao tipo de dieta em que foi submetido, não somente para o desenvolvimento da DM2 mais também da obesidade (SATO et al., 2009).

Os ratos também têm sido utilizados para verificar o desenvolvimento de DM2 e obesidade. Em 2021, Santos et al utilizaram da dieta de cafeteria para induzir obesidade em ratos Wistar machos. A forma de indução consistia em deixar ad libitum tipos de alimentos diferentes a base de gordura saturada e açúcar comum, dentre ele, biscoitos, chocolates e alimentos embutidos nos comedouros, para que espontaneamente os ratos escolhessem do que iram se alimenta, imitando assim a dieta diária de grande parte da população.

Foi descrito pelos autores que somente foi possível observar o desenvolvimento de DM2 nessa espécie, quando eles inocularam estreptozotocina. A ação deste agente químico passa pela toxicidade das células  $\beta$  pancreáticas, prejudicando a síntese de insulina (SANTOS et al., 2021). Segundo os estudos publicados por Larqué et al , 2011, camundongos são mais susceptíveis a dietas ricas em gorduras, já os ratos à dietas ricas em carboidratos (LARQUÉ et al., 2011).

Não foi o que demonstramos ao usar a dieta hipercalórica, suplementação a 40% de sacarose ou açúcar comum em água, quando observamos uma tendência dos animais quanto ao aumento do índice glicêmico ao longo das 32 semanas e no teste de TOTG (Figura 6). Além de um ganho de peso ao longo destas semanas estatisticamente significativo (Figura 5). Para justificar a obesidade desenvolvida nos animais, foi possível notar na necrópsia o aumento relativo do tecido adiposo dos animais do G1 em comparação com o G2, além de diminuição do tamanho do fígado com alteração da coloração. Estes órgãos no grupo G1 eram amarelados, alguns animais, até os tinha rugoso (dados não demonstrados).

A revisão literária mais criteriosa auxiliou no entendimento do que tem sido preconizado para a DM2, aspectos clínicos, testes laboratoriais, análise de resultados, principalmente em roedores. Todavia, a partir dos nossos dados experimentais podemos concluir que a suplementação com sacarose ou açúcar

comum na proporção de 40% na água de beber de camundongos fêmeas da linhagem de camundongos C57BL/6 alterou o ganho de peso corporal destes animais significativamente e provavelmente por aumento dos diferentes tipos de tecido adiposo corporal. Por outro lado, as aferições glicêmicas demonstraram uma tendência à DM2, mesmo o teste oral de tolerância à glicose não demonstrou diferenças entre os grupos de suplementação e sem suplementação do açúcar, considerando que o TOTG é um dos critérios diagnósticos considerado mais importante na determinação da diabetes, segundo a literatura.

Outro ponto analisado através do levantamento bibliográfico foi o fato de que a linhagem animal escolhida para a experimentação, camundongos C57Bl/6, influencia diretamente no desenvolvimento da fisiopatologia da doença e consequentemente no resultado das análises (KLEINERT *et al.*, 2018). Através da bibliografia é sabido que a DM2 não tem um fator inicial preponderante, mas um conjunto de fatores que levam a esta condição. Estes fatores também estão relacionados, além do ambiente e da alimentação, com a genética (SANTOS *et al.*, 2021). Os achados clínicos para DM2 observados neste trabalho nas fêmeas de C57Bl/6, isto é, não significativos, nos remetem a questionar se esta é a melhor linhagem para os estudos de DM2 sendo tem sido dito pela maioria dos artigos levantados.

## 7. CONCLUSÃO

As 30 semanas de indução através de dieta hipercalórica com sacarose ou açúcar comum foi considerado em termos experimentais um período longo e suficiente para desenvolvimento da DM2, porém os resultados clínicos referentes a aferição glicêmica e TOTG não foram suficientes para caracterizar a doença. As taxas de glicemia somente apresentaram uma tendência de aumento.

Bem como acontece em humanos, a escolha do animal experimental deverá considerar o desenvolvimento da DM2 com o fator genético, visto que alguns animais também são mais suscetíveis geneticamente a progressão patológica de doenças em geral. Por outro lado, existe uma escassez de publicações recentes a respeito de um modelo animal para estudos da fisiopatologia, maior entendimento dos mecanismos, além dos hábitos de vida, para a para DM2, já que alguns estudos publicados demonstraram que a presença da condição obesa não necessariamente inclui o desenvolvimento da DM2, ambas as doenças metabólicas de interesse na saúde pública mundial, incluindo o Brasil, portanto, merecendo uma melhor

investigação através de técnicas biomédicas mais atualizadas, podendo-se inclusive, sinalizar para novos tratamentos.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADA - American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2019; 35 (Suppl. 1). Disponível em: <https://diabetes.org/>
2. American Diabetes Association Professionals Committee Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care* 2022, 45, S17–S38
3. ANJANA, R. M. et al. The need for obtaining accurate nationwide estimates of diabetes prevalence in India-rationale for a national study on diabetes. **The Indian journal of medical research**, v. 133, n. 4, p. 369, 2011.
4. ANTUNES, Ygor Riquelme et al. Diabetes Mellitus Tipo 2: A importância do diagnóstico precoce da diabetes Type 2 Diabetes Mellitus: The importance of early diabetes diagnosis. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 12, p. 116526-116551, 2021.
5. ATKINSON, Mark A. et al. Organisation of the human pancreas in health and in diabetes. **Diabetologia**, v. 63, n. 10, p. 1966-1973, 2020.
6. BARNETT, Donald M.; KRALL, Leo P. A história do diabetes. *Joslin Diabetes Melito*, p. 17-30, 2009.
7. Barry, E.; Roberts, S.; Oke, J.; Vijayaraghavan, S.; Normansell, R.; Greenhalgh, T. Efficacy and Effectiveness of Screen and Treat Policies in Prevention of Type 2 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis of Screening Tests and Interventions. *BMJ* 2017, 356, i6538.
8. BERBUDI, Afiat et al. Type 2 diabetes and its impact on the immune system. **Current diabetes reviews**, v. 16, n. 5, p. 442, 2020.
9. BERLITZ, F. de A. et al. Quality control in clinical laboratory: aligning process improvement, reliability and patient safety. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 46, n. 5, p. 353-363, 2010.

10. BRUNS, David E.; KNOWLER, William C. Stabilization of glucose in blood samples: why it matters. *Clinical Chemistry*, v. 55, n. 5, p. 850-852, 2009.
11. DESOUZA, Cyrus et al. Association of hypoglycemia and cardiac ischemia: a study based on continuous monitoring. **Diabetes care**, v. 26, n. 5, p. 1485-1489, 2003.
12. DE LABORATÓRIO, ANIMAIS; DOMINGUES FILHO, ROBSON LAROCA. DETERMINAÇÃO DA CURVA GLICÊMICA E ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS (PANCREAS E FÍGADO) DE CAMUNDONGOS NOD PRODUZIDOS NO ICTB/FIOCRUZ.
13. FOROUHI, Nita Gandhi; WAREHAM, Nicholas J. Epidemiology of diabetes. **Medicine**, v. 38, n. 11, p. 602-606, 2010.
14. FREEMAN, Clara R. et al. Impact of sugar on the body, brain, and behavior. **Frontiers in Bioscience-Landmark**, v. 23, n. 12, p. 2255-2266, 2018.
15. FUCHS, Taíse et al. Modelos animais na síndrome metabólica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 45, 2018.
16. GILLIES, Clare L. et al. Different strategies for screening and prevention of type 2 diabetes in adults: cost effectiveness analysis. **Bmj**, v. 336, n. 7654, p. 1180-1185, 2008.
17. GONZALEZ, A. et al. Impact of mismatches in HbA1c vs glucose values on the diagnostic classification of diabetes and prediabetes. **Diabetic Medicine**, v. 37, n. 4, p. 689-696, 2020.
18. GRARUP, Niels et al. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: from genome-wide association studies to rare variants and beyond. **Diabetologia**, v. 57, n. 8, p. 1528-1541, 2014.
19. HARWOOD JR, H. James; LISTRANI, Paul; WAGNER, Janice D. Nonhuman primates and other animal models in diabetes research. **Journal of diabetes science and technology**, v. 6, n. 3, p. 503-514, 2012.
20. HOCH, Tobias; PISCHETSRIEDER, Monika; HESS, Andreas. Snack food intake in ad libitum fed rats is triggered by the combination of fat and carbohydrates. **Frontiers in psychology**, v. 5, p. 250, 2014.

21. Informações nutricionais do açúcar refinado. Produtos União, 2022. Disponível em:<[https://uniao.com.br/produtos/409001139\\_uniao\\_refinado\\_especial](https://uniao.com.br/produtos/409001139_uniao_refinado_especial)>. Acesso em: 12 de dez. de 2022
22. Juul, F.; Martinez-Steele, E.; Parekh, N.; Monteiro, C.A.; Chang, V.W. Ultra-processed food consumption and excess weight among US adults. *Br. J. Nutr.* 2018, 120, 90–100. [CrossRef]
23. KANTER, Jenny E.; BORNFELDT, Karin E. Impact of diabetes mellitus. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 36, n. 6, p. 1049-1053, 2016.
24. KHARROUBI, A. T.; DARWISH, H. M. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes* 6 (6): 850–867. 2015.
25. KIMURA, Yoriko et al. Development of a new diet-induced obesity (DIO) model using Wistar lean rats. **Experimental Animals**, p. 17-0079, 2018.
26. KIRSTEN, Vanessa R.; SESTERHEIM, Patrícia; SAITOVITCH, David. Modelos experimentais para o estudo do diabetes tipo 1. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 43, n. 1, p. 3-10, 2010.
27. KLEINERT, Maximilian et al. Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 14, n. 3, p. 140-162, 2018.
28. KOEPPEN, B.M.; STANTON, B.A. Berne & Levy : Fisiologia. [tradução Adriana Pitella Sudré [et al.]. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. ISBN 978-85-352-3057-4.
29. KOHEI, K. A. K. U. Pathophysiology of type 2 diabetes and its treatment policy. *JMAJ*, v. 53, n. 1, p. 41-46, 2010.
30. KOTTAISAMY, Chidhambara Priya Dharshini et al. Experimental animal models for diabetes and its related complications—a review. **Laboratory Animal Research**, v. 37, n. 1, p. 1-14, 2021.
28. KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J.C. Robbins basic pathology. Tenth edition. Philadelphia, Pennsylvania, 2018. Elsevier. ISBN: 978-0-323-35317-5.
30. LAGES, Marlene et al. Metabolic Effects of an Oral Glucose Tolerance Test

Compared to the Mixed Meal Tolerance Tests: A Narrative Review. **Nutrients**, v. 14, n. 10, p. 2032, 2022.

31. LARQUÉ, Carlos et al. Early endocrine and molecular changes in metabolic syndrome models. *IUBMB life*, v. 63, n. 10, p. 831-839, 2011.

32. Longnecker DS, Gorelick F, Thompson ED (2018) Anatomy, histology, and fine structure of the pancreas In: Beger HG, Warshaw AL, Hruban RH et al. (eds) *The pancreas: an integrated textbook of basic science, medicine, and surgery*, 3rd edn John Wiley & Sons Ltd, Hoboken, NJ, pp 10–23.

33. LOVIC, Dragan et al. The growing epidemic of diabetes mellitus. **Current vascular pharmacology**, v. 18, n. 2, p. 104-109, 2020.

34. LUSTIG, Robert H. Ultraprocessed food: Addictive, toxic, and ready for regulation. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 3401, 2020.

35. LUTZ, T. A.; WOODS, S. C. Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol*. Chapter 5. 2012.

36. MALTA, Deborah Carvalho et al. Fatores associados ao uso de narguilé e outros produtos do tabaco entre escolares, Brasil, 2015. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 21, 2018.

37. MCAULIFFE, John C.; CHRISTEIN, John D. Type 2 diabetes mellitus and pancreatic cancer. **Surgical Clinics**, v. 93, n. 3, p. 619-627, 2013.

38. MONTENEGRO JR, Renan; CHAVES, Mariana; FERNANDES, Virginia. *Fisiologia pancreática: Pâncreas endócrino*. 2016.

39. NAGHAVI, Mohsen et al. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The lancet**, v. 390, n. 10100, p. 1151-1210, 2017.

40. NAGY, Csörsz; EINWALLNER, Elisa. Study of in vivo glucose metabolism in high-fat diet-fed mice using oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin tolerance test (ITT). **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 131, p. e56672, 2018.

41. NILSSON, Cecilia et al. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 33, n. 2, p. 173-181, 2012.

42. RAMOS-RODRIGUEZ, Juan Jose et al. Central proliferation and neurogenesis is impaired in type 2 diabetes and prediabetes animal models. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. e89229, 2014.
43. RICHARDSON, Allyson; PARK, Walter G. Acute pancreatitis and diabetes mellitus: a review. **The Korean Journal of Internal Medicine**, v. 36, n. 1, p. 15, 2021.
44. RORABAUGH, Jacki M.; STRATFORD, Jennifer M.; ZAHNISER, Nancy R. Differences in bingeing behavior and cocaine reward following intermittent access to sucrose, glucose or fructose solutions. *Neuroscience*, v. 301, p. 213-220, 2015.
45. ROSINI, T.C. *et al.* OBESIDADE INDUZIDA POR CONSUMO DE DIETA: MODELO EM ROEDORES PARA O ESTUDO DOS DISTÚRBIOS RELACIONADOS COM A OBESIDADE *Rev. Assoc. Med. Bras.* vol.58 no.3 São Paulo May/June 2012.
46. SANTOS, Mirelly Marques Romeiro et al. Combination of cafeteria diet with intraperitoneally streptozotocin in rats. A type-2 diabetes model. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 36, 2021.
47. SATO-MITO, Natsuko et al. Long term effects of high fat and sucrose diets on obesity and lymphocyte proliferation in mice. *JNHA-The Journal of Nutrition, Health and Aging*, v. 13, n. 7, p. 602-606, 2009.
48. SEQUEIRA, I. R.; POPPITT, S. D. HbA1c as a marker of prediabetes: A reliable screening tool or not. **Insights Nutr Metabol**, v. 1, n. 1, p. 3, 2017.
49. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (São Paulo). Diretrizes 2019-2020. Brasília. 2019. Acesso em: 18 mar. 2021.
50. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (São Paulo). Tipos de diabetes. 2019. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/publico/diabetes/tipos-de-diabetes>. Acesso em: 26 nov. 2020.
51. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diabetes mellitus gestacional: diagnóstico, tratamento e acompanhamento pós-gestação. diagnóstico, tratamento e acompanhamento pós gestação. 2015. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/pdf/diabetes-gestacional/001-DiretrizesSBD-Diabetes-Gestacional-pg192.pdf>. Acesso em: 21 maio 2021.



52. SZYPOWSKA, Alicja; REGULSKA-ILOW, Bożena. Significance of low-carbohydrate patients with cancer. **Roczniki Państwowego Zakładu Higieny**, v. 70, n. 4, 2019.
53. TAYLOR, Roy; AL-MRABEH, Ahmad; SATTAR, Naveed. Understanding the mechanisms of reversal of type 2 diabetes. **The lancet Diabetes & endocrinology**, v. 7, n. 9, p. 726-736, 2019.
54. Tschiedel, Balduino. A História do Diabetes. Disponível em: <http://www.endocrino.org.br/historia-do-diabetes/>. Acesso em 30 de novembro de 2022.
55. VOLKOW, N. D.; WANG, G. J.; BALER, R. D. Belønning, dopamin og kontroll av matinntaket: Implikasjoner for fedme. **Trender Cogn Sci**, v. 15, p. 37-46, 2011.
56. WU, Yanling et al. Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention. **International journal of medical sciences**, v. 11, n. 11, p. 1185, 2014.
57. YOSHIMURA, T. M. Luz de baixa potência como proposta terapêutica à síndrome metabólica em modelo animal. Dissertação de mestrado – São Paulo: Universidade de São Paulo, 2014.
58. YOUNG, W.F.J. Seção 5- Pâncreas. In: YOUNG, W.F.J. Sistema Endócrino - Volume 2. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.
59. Ziauddeen, H., Farooqi, I. & Fletcher, P. Obesity and the brain: how convincing is the addiction model? *Nat Rev Neurosci* 13, 279–286 (2012).

## ANEXO 1



Niteroi, 04 de março de 2022  
CEUA N [6722210119](#)

Ilmo(a). Sr(a).  
Responsável: Carla Eponina De Carvalho Pinto  
Área: Animais De Laboratório

Título da proposta: "Indução de obesidade e Diabetes Mellitus tipo 2 em roedores para estudos correlacionados a citocinas inflamatórias".

**Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais UFF** (ID 000366)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 26/fevereiro/2022) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Prezados, O presente projeto esteve suspenso devido ao isolamento pandêmico pelo SARCOV-2, portanto, solicitamos a extensão do prazo por mais 3 anos, até abril de 2025. Att, Carla Eponina".

Comentário da CEUA: "A presente solicitação foi aprovada."

Prof<sup>a</sup> Carla Eponina  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal Fluminense

Prof<sup>a</sup> Caroline de Souza Barros  
Vice-Coodenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal Fluminense

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Indução de obesidade e Diabetes Mellitus tipo 2 em roedores para estudos correlacionados a citocinas inflamatórias", protocolada sob o CEUA nº 6722210119 (ID 000561), sob a responsabilidade de **Carla Eponina de Carvalho Pinto e equipe; Sergio Girão Barroso** - 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 - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense (CEUA/UFF) na reunião de 12/09/2019.

We certify that the proposal "Induction of Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus in Rodents for Studies Related to Inflammatory Cytokines", utilizing 240 Isogenics mice (240 females), protocol number CEUA 6722210119 (ID 000561), under the responsibility of **Carla Eponina de Carvalho Pinto and team; Sergio Girão Barroso** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University Fluminense (CEUA/UFF) in the meeting of 09/12/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [04/2019](#) a [03/2022](#) Área: [Animais de Laboratório](#)

Origem: [Biotério Central](#)

Espécie: [Camundongos isogênicos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [08 a 08 semanas](#) N: [240](#)

Linhagem: [C57BL/6 BALB/C SUIÇO E RATAS WISTER](#)

Peso: [30 a 200 g](#)

Local do experimento: Todos os animais fornecidos pelo NAL são livres de patógenos específicos, SPF. Serão mantidos durante 20 semanas no biotério experimental do departamento de Imunobiologia, Instituto de Biologia, UFF. Serão formados grupos de fêmeas de camundongos de cada linhagem, C57BL/6, BALB/c, Suiço e ratas WISTER, com 8 semanas de idade. Os animais serão alojados em grupos de 5 animais, em gaiolas de polietileno, com tampas de arame, medindo para camundongos 30 x 20 x 13 cm, e ratos 41x34x17,8 cm, forradas com maravalha autoclavada. Os animais serão acondicionados em ambiente controlado, com exaustão, ciclo de claro e escuro de 12/12 horas, temperatura variando entre 22-24°C e receberão alimentação básica com ração comercial, fornecidas pela própria Universidade.