



DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE ÁCIDO ÚRICO EM RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR REDUÇÃO DE NINHADA ASSOCIADA À DIETA CAFETERIA

Josianne Cristina Borri Stangarlin¹; Edivan Ramos de Paula Rodrigues²

RESUMO: A obesidade é um dos mais sérios problemas de saúde pública na atualidade, pois a prevalência de pessoas com sobrepeso e obesidade tem aumentado significativamente em todo o mundo. Este aumento na incidência é preocupante, pois a obesidade é considerada, atualmente, não apenas um acúmulo de tecido adiposo, mas também uma situação inflamatória crônica devido ao grande número de mediadores inflamatórios produzidos pelo tecido adiposo. Por este motivo, a obesidade está associada a diversas co-morbidades como síndrome metabólica, hipertensão, síndrome nefrótica, diabetes *mellitus* tipo 2 e resistência à insulina. Uma das alterações bioquímicas freqüentemente encontradas em pacientes obesos é a hiperuricemia. O ácido úrico é um produto nitrogenado do metabolismo de purinas que apresenta característica de ácido fraco tendo um valor de pKa de ionização próximo a 5,5. Este composto é normalmente eliminado pela urina sendo que o pH urinário é um dos fatores que influenciam, significativamente, sua excreção renal. Embora o ácido úrico seja uma forma de excreção de nitrogênio e apresente atividade antioxidante, seu acúmulo no organismo é responsável pela precipitação de cristais de urato no parênquima e túbulos renais e articulações. Esta condição clínica é conhecida como gota. A associação de elevações séricas do ácido úrico e dislipidemias, sobrepeso/obesidade e resistência à insulina tem sido descritas na literatura, porém não está claro ainda o mecanismo exato de como estas alterações promovem hiperuricemia. O que se sabe é que elevações do ácido úrico podem causar, além da gota, aumento da pressão arterial. Os modelos animais de obesidade são freqüentemente usados para estudos bioquímicos e fisiopatológicos da obesidade em laboratório. Dois destes modelos tem sido muito usados na atualidade e se referem à obesidade induzida por redução de ninhada ou superalimentação neonatal e o modelo de obesidade induzida por dieta altamente palatável do tipo cafeteria. Apesar de diversos estudos caracterizarem bem as alterações bioquímicas pertinentes à obesidade em ambos os modelos citados, não encontramos na literatura trabalhos que investigam o metabolismo de ácido úrico nestes animais. Diante disso, este projeto foi elaborado e pretende avaliar os níveis séricos de ácido úrico em ratos Wistar com obesidade induzida por redução de ninhada, por dieta cafeteria e, animais com obesidade induzida por ambos os modelos.

PALAVRAS-CHAVE: Obesidade, hiperuricemia, ácido úrico.

1 INTRODUÇÃO

As purinas são bases orgânicas nitrogenadas representadas pela adenina e guanina e são importantes para a síntese de nucleotídeos que compõem os ácidos nucléicos e outras moléculas orgânicas como nucleoproteínas e moléculas energéticas como a adenosina trifosfato (ATP) (PEIXOTO et al. 2001). As purinas provenientes da

¹ Acadêmico do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – Paraná. Programa de Iniciação Científica do Cesumar (PIBIC). josi_stangarlin@hotmail.com

² Orientador, Professor Mestre do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR. edivanramos@hotmail.com.br

dieta ou do metabolismo endógeno de nucleotídeos são degradadas em hipoxantina por reações catalisadas pelas xantinas oxidases. Em seguida, a hipoxantina é reduzida em ácido úrico, uma forma de excreção do nitrogênio oriundo das bases nitrogenadas púricas (FANG; ALDERMAN, 2000).

Segundo Riese; Sakhaee, 1992; Fraxino e Riella, 2003 citado por HORDONHA, 2009 e CHOI, 2005, a maior parte dos uratos são produzidos no fígado a partir do metabolismo de nucleoproteínas e ácidos nucléicos endógenos e provenientes da dieta. Estima-se que cerca de 400 mg de ácido úrico são de origem endógena, enquanto 400 mg são de origem exógena. Por apresentar característica de ácido fraco (pka próximo a 5,5), a maior parte do ácido úrico se encontra na forma de urato no sangue e no interior das células. Contudo, ao passar pelos rins, local de excreção deste composto, o ácido úrico encontra um pH mais ácido e, sendo assim, acaba prevalecendo sua forma não ionizada. Vale lembrar que o estado de ionização do ácido úrico esta diretamente relacionado com sua taxa de excreção renal sendo que a forma não ionizada permite uma maior reabsorção tubular e, conseqüentemente, baixa excreção pelos rins.

O excesso de ácido úrico no organismo caracteriza uma situação clínica conhecida como hiperuricemia e é responsável pela precipitação de cristais de ácido úrico nas articulações, parênquima renal e túbulos renais. Esta condição clínica é conhecida como gota e pode ser desencadeada por um metabolismo formador de ácido úrico acelerado ou por uma excreção deficiente deste ácido pelos rins (CORBELLA, 2005 apud HORDONHA, 2009). Fatores que diminuem a excreção renal de ácido úrico podem ser representados pelo uso de medicamentos como salicitatos, urina ácida, síndrome de Fanconi e insuficiência renal (BENJAMIN, 1977; TUKUFU, 1982 apud ANDRIOLO, 1995). Segundo a Associação Brasileira de Medicina Biomolecular (2004), além da gota, a hiperuricemia também pode causar diarréia, cirrose hepática, conjuntivite, esclerite, irite, cefaléia, compressão de nervos, afasia podendo chegar ao coma, necrose da cabeça do fêmur com dor localizada, lesões císticas e destrutivas com limitação dos movimentos e dor à noite ou em repouso.

A hiperuricemia é mais frequente em homens com idade entre 30 e 40 anos que em mulheres sendo que os maiores níveis de estrogênios em mulheres parecem ser o responsável por esta diferença, uma vez que o estrógeno aumenta a depuração renal do ácido úrico (FAN; ALDERMAN, 1980 apud HORDONHA, 2009). Esta influência do gênero justifica os valores de referência diferentes entre homens e mulheres. Enquanto os níveis séricos normais de ácido úrico para homens está na faixa de 2,5 a 7,0 mg/dL, para pacientes do gênero feminino está na faixa de 1,5 a 6,0 mg/dL (BECKER, 2001 apud GANGSON, 2005; TERKELTAUB, 2004 apud HORDONHO, 2009, SCHLESINGER, 2005 apud POLETTO, 2011).

O aumento dos níveis de ácido úrico causa inflamação local nos rins que acaba dificultando a circulação sanguínea local. Para suplantar esta dificuldade, os rins secretam renina que eleva os níveis de angiotensina no organismo. Como conseqüência, há um aumento significativo na pressão arterial. Além de alterações na pressão arterial, níveis elevados de ácido úrico estão associados à resistência à insulina em pacientes com síndrome metabólica e com obesidade (VOURINEN, 1994). Pacientes com resistência à insulina apresentam hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia, condições que estão diretamente associadas a hiperuricemia (CHEN, 2006).

A obesidade é um fator conhecido por aumentar a concentração de ácido urico no plasma ocasionado tanto pelo aumento na produção quanto um decréscimo na excreção de urato. O acúmulo de gordura visceral e subcutânea encontrado em pacientes obesos é o responsável pela resistência à insulina devido ao maior número de ácidos graxos livres circulantes e a produção do fator de necrose tumoral e redução da produção de adiponectina pelo tecido adiposo. Em conjunto, estes fatores reduzem significativamente

a depuração de ácido úrico pelos rins (YANAMOTO, 2005; SCHLSINGER, 2005 apud POLETTO, 2011).

A hiperuricemia representa um fator de risco para doenças ateroscleróticas, como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral. Contudo, a relação entre os níveis de ácido úrico e a maior incidência de doenças ateroscleróticas permanece controversa, uma vez que a hiperuricemia está associada a outros fatores de risco para aterosclerose como resistência à insulina e hipertrigliceridemia (NISKANEM, 2006).

Conforme descrito acima, os níveis de ácido úrico encontram-se elevados em pacientes com sobrepeso e obesidade devido, principalmente, a resistência à insulina pertinente a esta situação. O sobrepeso e a obesidade representam situações caracterizadas pelo acúmulo anormal de tecido adiposo no organismo. O ganho de peso devido ao aumento na massa lipídica representa um dos grandes problemas de saúde pública na atualidade, pois se trata de situações com elevada prevalência e associadas ao desenvolvimento de várias co-morbidades (FERREIRA; MAGALHÃES, 2006; RIBEIRO, 2006).

Por se tratar de uma condição clínica com elevada prevalência mundial, vários modelos animais que estudam a fisiopatologia da obesidade foram desenvolvidos. Contudo, dois modelos tem recebido destaque na atualidade. Um deles é representado pela redução de ninhada onde os neonatos acabam recebendo uma superalimentação durante o desenvolvimento pós-natal. Neste caso, os animais passam por um período de adaptação metabólica direcionada para a reserva de energia durante a vida adulta com conseqüente desenvolvimento da obesidade (DANTAS, et al. 2010; BOULLU-CIOCCA, et al. 2005). Outro modelo é caracterizado pela introdução de uma dieta hipercalórica, denominada dieta cafeteria, onde os animais recebem alimentos calóricos como refrigerante, chocolate, bolachas entre outros (CESARETTI; KOHLMANN JR, 2006).

Tanto na obesidade obtida por redução de ninhada quanto naquela obtida por dieta cafeteria já foi demonstrado que os animais apresentam hiperinsulinemia de jejum caracterizando um quadro de resistência à insulina (BOULLU-CIOCCA, et al., 2005; PLAGEMANN, et al., 1999). Contudo, não encontramos na literatura trabalhos que avaliam os níveis de ácido úrico nestes animais. Dessa forma, a hipótese levantada por este projeto é a de que ratos obesos obtidos por redução de ninhada, por dieta cafeteria ou pela associação de ambos os modelos possam apresentar alterações no metabolismo de ácido úrico, uma vez que apresentam resistência à insulina e que estas duas alterações metabólicas estão associadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste projeto serão utilizados 09 ratos Wistar machos e 27 fêmeas com idade entre 50 e 60 dias. Estes animais serão obtidos no Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ficarão acondicionados no Biotério Central do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR) a uma temperatura de $\pm 21^{\circ}\text{C}$ com ração e água *ad libitum*. O ciclo sono-vigília destes animais serão de 12 horas sendo que as luzes permanecerão apagadas entre as 19:00 e 07:00 horas. Os animais utilizados para os experimentos serão obtidos do cruzamento entre os animais citados anteriormente sendo que as condições de acondicionamento serão as mesmas descritas para os progenitores, exceto nos dias de experimentos em que os animais ficarão em jejum de 12 horas. Serão ainda utilizados alimentos necessários na dieta cafeteria como segue tabela abaixo e ração tradicional (nuvilab cr1, nuvital) ®, fotômetro de filtro bioplus 2000®; kit para dosagem de ácido úrico gold analisa®; soro-controle normal e patológico labtest® ou gold analisa®; banho-maria sieger®; centrífuga evlab® macro ev:04; balança eletrônica digital 9094 braun®.

Os experimentos serão realizados no laboratório de Farmacodinâmica e Bioquímica Clínica do CESUMAR.

Procedimento:

Após aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal do Cesumar (COBAC), 03 fêmeas para cada macho serão acondicionados em gaiolas medindo 32x40x13 cm (um animal para cada 0,032 m²) no biotério central do CESUMAR. Os animais permanecerão acondicionados por um período entre 15 e 30 dias para acasalamento. Em seguida, as fêmeas prenhas serão individualizadas em gaiolas da mesma dimensão até o parto.

Logo após o parto, os animais serão divididos em dois grupos. No grupo A, as ninhadas serão reduzidas a três animais machos por rata e, no grupo B, o número de animais será mantido em 12. Para este grupo, será dada prioridade para os animais machos. Caso o número de machos seja inferior a 12, o número será completado com fêmeas que serão descartadas após o desmame.

Após o desmame tanto o grupo A quanto o B serão subdivididos em dois subgrupos: A-1 e B-1 receberão uma dieta normal contendo ração tradicional; A-2 e B-2 receberão uma dieta do tipo cafeteria de acordo com o quadro abaixo.

DIAS DA SEMANA	ALIMENTOS
Segunda-feira	Mortadela, marshmallow, chips bacon, bolacha waffer e refrigerante.
Terça-feira	Bolacha recheada, chips queijo, ração, salsicha e refrigerante.
Quarta-feira	Pão francês, salsicha, chips queijo e refrigerante.
Quinta-feira	Mortadela, bolacha waffer, paçoca, chips bacon e refrigerante.
Sexta-feira	Bolacha recheada, salsicha, chips queijo, marshmallow e refrigerante cola.
	Bolacha recheada, salsicha, chips queijo, ração,

Quando os animais completarem 30, 60, 90 e 120 dias, uma amostra de 4 animais por grupo (12 ao total) será retirada para realização da coleta de sangue para dosagens bioquímicas de ácido úrico. Estes animais deverão estar em jejum entre 10 e 14 horas e terão seu peso medido antes do início dos experimentos.

As amostras de sangue serão centrifugadas durante 15 minutos a 3.000 R.P.M. para obtenção de soro. A determinação do ácido úrico será feita por método enzimático-colorimétrico (Uricase-Trinder) sendo que as absorbâncias serão medidas em fotômetro de filtro Bioplus 2000®.

Após coleta de sangue, os animais serão sacrificados em cuba saturada com éter etílico e será determinado o comprimento naso-anal que, juntamente com o peso corporal determinado antes dos experimentos, será utilizado para o cálculo do Índice de Lee. Em seguida, as gorduras epididimal, mesentérica e retroperitoneal serão retiradas, lavadas e pesadas. Desta forma, os dados serão expressos como gramas de gordura por 100g de peso corporal (g/100g). O Índice de Lee e as gorduras medidas serão usadas para comprovação de que o animal realmente está obeso.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão descritos de forma quantitativa e analisados pelo programa estatístico *GraphPad Software Prisma*® 3.0 sendo utilizado o teste *One-Way ANOVA* (paramétrico), seguido de Bonferroni para análise de variância entre os grupos com nível de significância $p < 0,05$.

Espera-se com este trabalho, avaliar a relação de hiperuricemia com obesidade, em ratos submetidos à redução de ninhada e em ratos com ninhada normal, a fim de verificar se as condições gestacionais interferem no perfil fisiológico dos animais.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que os resultados obtidos sejam satisfatórios, a fim de comprovar que o aumento de obesidade é um fator preponderante para o aumento dos níveis de ácido úrico e possível desenvolvimento de hiperuricemia.

REFERÊNCIAS

ANDRIOLO, ADAGMAR. Ocorrência de hipouricemia em pacientes com nefrolitíase. **J.Bras. Nefrol.** 1995; 17(3): 159 – 161

BOULLU – CIOCCA S, DUTOUR A, GUILLAUME V, ACHARD V, OLIVER C, GRINO M. Postnatal diet-induced obesity in rats upregulates systemic and adipose tissue glucocorticoid metabolism during development and in adult: its relationship with the metabolic syndrome. **Diabetes.** 2005; 54: 197 – 203.

CESARETTI, M. L. R; KOHLMANN-JUNIOR, O. Modelos Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, vol.5 nº 2, Abril, 2006.

CHEN CJ, SHI Y, HEARN A, FITZGERALD K, GOLENBOCK D, REED G, ET AL. MyD88-dependent IL-1 receptor signaling is essential for gouty inflammation stimulated by monosodium urate crystals. **J Clin Invest.** 2006.

CHOI, H.K.; MOUNT, D.B.; REGINATO, A.M. **Pathogenesis of Gout.** Ann In Med, 2005.
DANTAS, E. M.; PIMENTEL, E. B.; GONÇALVES, C. P.; LUNZ, W.; RODRIGUES, S. L.; MILL, J. G. Effects of chronic treadmill training on body mass gain and visceral fat accumulation in overfed rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** 43: 515-521, 2010.

FANG J, ALDERMAN M H. Serum uric acid and cardiovascular mortality The Hanes I epidemiologic follow up study 1971 – 1972. **JAMA**, Chicago, 2000; 283:2404 – 2410.

FERREIRA, VANESSA ALVES; MAGALHÃES, ROSANA. Obesidade no Brasil: tendências atuais. **Revista Portuguesa de Saúde Pública.** 2006;24(2):71-81

GANGSON, NANCY J.; KELLY, SUSAN J.; SCARLETT, EDNA; SUNDY, JOHN S.; HERSHFIELD, MICHAEL S. Control of hyperuricemia in subjects with refractory gout, and induction of antibody against poly (ethylene glycol) (PEG), in a phase I trial of subcutaneous PEGylated urate oxidase. **Arthritis Research & Therapy** 2006, 8:R12.

HORDONHO, ANA ADÉLIA CAVALCANTE. **Componentes da síndrome metabólica em portadores de obesidade mórbida, segundo diferentes níveis de uricemia.** Disponível em: <http://www.repositorio.ufal.br/handle/123456789/474>. Acessado em 29 março 2011.
MARTINON F, GLIMCHER LH: Gout: new insights into an old disease. **J Clin Invest** 2006 Aug; 116(8):2073-5

NISKANEM LK, LAAKSONEN DE, LINDSTROM J, ERIKSSON JG, KEINANEN – KIUKAANNIEMI S, ILANNE – PARIKKA P, AUNOLA S, HAMALAINEN H, TUOMILEHTO J, UUSITUPA M. Serum uric acid as a harbinger of metabolic outcome in subjects with impaired glucose tolerance: The Finnish Diabetes Prevention Study. **Diabetes care** 2006; 29: 709-11.

PEIXOTO, M.R.G.; MONEGO, E.T.; JARDIM, P.C.B.V.; CARVALHO, M.M.; SOUSA, A.L.L.; OLIVEIRA, J.S.; BALESTRA NETO, O. Dieta e Medicamentos no Tratamento da Hiperuricemia em Pacientes Hipertensos. **Arquivo Brasileiro Cardiologia**, 2001.

POLETTO, JULIANA; HARIMA, HELENA AIKO; FERREIRA, SANDRA ROBERTA GOUVEA AND GIMENO, SUELY GODOY AGOSTINHO. Hyperuricemia and associated factors: a cross-sectional study of Japanese-Brazilians. **Cad. Saúde Pública**. 2011, vol.27, n.2, pp. 369-378. ISSN 0102-311X.

RIBEIRO FILHO, FERNANDO F.; MARIOSIA, LYDIA S.; FERREIRA, SANDRA R. G. AND ZANELLA, MARIA TERESA. Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. **Arq Bras Endocrinol Metab** [online]. 2006, vol.50, n.2, pp. 230-238.
VEIGA, GENÉSIA DA. **Gota: Novo tratamento imunoestimulante. Associação Brasileira de Medicina Biomolecular**: Disponível em: http://www.medicinacomplementar.com.br/biblioteca_doenças_gota.asp. Acesso em: 10 maio 2011.

VOURINEM-MARKKOLA, YKI JARVINEM H. Hiperinsulinemia and insulin resistance. **J Clin Endocrinol Metabol** 1994.

YAMAMOTO T, MORIWAK Y, TAKAHASHI S. Effect of Ethanol on the metabolism of Purine Bases (hypoxanthine, xanthine, and uric acid). **Clin Chim Acta** 2005; 356 (1-2): 35 – 37.