

Estado da publicação: O preprint não foi publicado em outro meio.

# INFLAMAÇÃO: O ELO OCULTO ENTRE OBESIDADE E DIABETE TIPO 2

Fernanda Lika Tabushi, Laís Soares Rodrigues, Rodrigo Schuh, Vinícius Ferreira Caron, Osvaldo Malafaia, Sergio Luiz Rocha, Vitória Naomi Okimura, Fernando Issamu Tabushi

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.14384>

Submetido em: 2025-12-03

Postado em: 2025-12-03 (versão 1)

(AAAA-MM-DD)

## INFLAMAÇÃO: O ELO OCULTO ENTRE OBESIDADE E DIABETE TIPO 2

### *INFLAMMATION: THE HIDDEN LINK BETWEEN OBESITY AND TYPE 2 DIABETES*

Fernanda Lika Tabushi<sup>1</sup>, Laís soares Rodrigues<sup>2</sup>, Rodrigo Schuh<sup>2</sup>, Vinícius Caron<sup>1</sup>, Osvaldo Malafaia<sup>1</sup>, Vitória Naomi Okimura<sup>1</sup>, Sergio Luiz Rocha<sup>2</sup>, Fernando Issamu Tabushi<sup>1</sup>

Afiliação dos autores: <sup>1</sup>Instituto Presbiteriano Mackenzie, São Paulo, SP, Brasil; <sup>2</sup> Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil;

#### ORCID

Fernanda Lika Tabushi <https://orcid.org/0000-0002-9508-4272>

Laís Soares Rodrigues- <https://orcid.org/0000-0002-7965-1361>

Rodrigo Schuh <https://orcid.org/0000-0003-0169-9637>

Vinícius Ferreira Caron <https://orcid.org/0000-0001-9642-6775>

Osvaldo Malafaia <https://orcid.org/0000-0002-1829-7071>

Vitória Naomi Okimura :<https://orcid.org/0000-0001-9872-9120>

Sergio Luiz Rocha <https://orcid.org/0000-0002-3455-3266>

Fernando Issamu Tabushi <https://orcid.org/0000-0002-3150-2164>

#### Correspondência

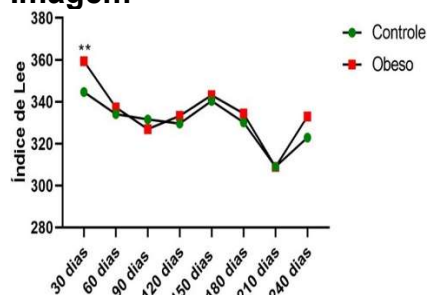
Fernanda Lika Tabushi

Email: [fernanda\\_lika@hotmail.com](mailto:fernanda_lika@hotmail.com)

Conflito de interesse: Nenhum

Financiamento: Em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001

#### Imagem



Comparação do índice de Lee entre os grupos Obeso e Controle.

#### Mensagem Central

Obesidade e o diabetes melito tipo 2 cada vez mais compartilham estado de inflamação crônica de baixo grau que agrava a resistência à insulina e o desequilíbrio metabólico, evidenciando a importância de aprofundar o entendimento da resposta inflamatória nessas condições.

## Perspectiva

Avaliar futuramente a TNF- $\alpha$  na inflamação associada à obesidade e ao diabetes melito tipo 2, validando sua utilidade como biomarcador mais sensível nesses modelos experimentais, enquanto que IL-6 requer investigações adicionais, especialmente no contexto da obesidade e também no diabetes em modelos animais.

## Declaração de disponibilidade de dados de pesquisa

Este manuscrito trata-se de uma revisão integrativa e, portanto, não gerou dados primários. Todos os dados utilizados derivam exclusivamente de artigos previamente publicados e disponíveis publicamente em bases científicas, incluindo SciELO, PubMed, Scopus e Google Scholar. Não foram produzidos conjuntos de dados originais, planilhas experimentais, imagens laboratoriais ou qualquer tipo de dado primário que exija depósito em repositório de acesso aberto. Para atender às diretrizes de Ciência Aberta do SciELO Preprints, declaramos que não há dados a serem disponibilizados além das próprias referências citadas, que são de acesso público. Assim, a pesquisa se baseia integralmente em informações secundárias obtidas de literatura científica já publicada, não havendo novos dados a serem compartilhados.

## Contribuição dos autores

Fernanda Lika Tabushi: Conceituação

Laís Soares Rodrigues: Análise formal

Rodrigo Schuh: Investigação

Vinícius Ferreira Caron: Metodologia

Oswaldo Malafaia: Administração do projeto

Sergio Luiz Rocha: Redação (esboço original)

Fernando Issamu Tabushi: Redação (revisão e edição)

Editor responsável pela revisão: Prof. Dr. Luiz Fernando Kubrusly

**RESUMO - Introdução:** Obesidade e o diabetes melito tipo 2 (DM2) cada vez mais compartilham estado de inflamação crônica de baixo grau que agrava a resistência à insulina e o desequilíbrio metabólico, evidenciando a importância de aprofundar o entendimento da resposta inflamatória nessas condições. **Objetivo:** Investigar a resposta inflamatória em modelos experimentais por meio da análise e validação dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6, com foco ao controle metabólico e à prevenção de complicações. **Método:** Ratos machos Wistar recém-nascidos foram distribuídos em 4 grupos experimentais: controle (veículo), diabético (induzido com estreptozotocina no 5º dia pós-natal), obeso (induzido por redução de ninhada para 3 filhotes por mãe) e seu respectivo controle. Os grupos controle (veículo) e diabético foram acompanhados até aos 90 dias de vida, com avaliações periódicas de peso, comprimento e teste de tolerância à glicose aos 80 dias, sendo então eutanasiados. Já os grupos controle e obeso foram acompanhados até os 240 dias, com os mesmos parâmetros avaliados. Após a eutanásia, foi coletado sangue de todos os animais para análise dos níveis séricos de TNF- $\alpha$  e IL-6. **Resultado:** Observou-se que a expressão de TNF- $\alpha$  esteve significativamente aumentada tanto em animais obesos quanto em diabéticos em relação aos respectivos controles; em contrapartida, a IL-6 apresentou aumento estatisticamente significativo apenas no grupo diabético quando comparado ao veículo, sem diferenças no modelo de obesidade em relação ao controle. Além disso, a comparação direta entre os modelos demonstrou maior elevação do TNF- $\alpha$  nos ratos diabéticos em relação aos obesos, enquanto a IL-6 não apresentou diferença significativa entre os 2 grupos. **Conclusão:** TNF- $\alpha$  na inflamação associada à obesidade e ao DM2, valida sua utilidade como biomarcador mais

sensível nesses modelos experimentais. IL-6 requer investigações adicionais, especialmente no contexto da obesidade e também no diabetes em modelos animais.

**PALAVRAS-CHAVE** – Obesidade. Diabetes melito tipo 2. TNF- $\alpha$ . IL-6.

**ABSTRACT - Introduction:** Obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM) increasingly share a state of low-grade chronic inflammation that exacerbates insulin resistance and metabolic imbalance, highlighting the importance of deepening the understanding of the inflammatory response in these conditions. **Objective:** To investigate the inflammatory response in experimental models through the analysis and validation of TNF- $\alpha$  and IL-6 levels, focusing on metabolic control and the prevention of complications. **Method:** Newborn male Wistar rats were divided into 4 experimental groups: control (vehicle), diabetic (induced with streptozotocin on the 5th postnatal day), obese (induced by reducing the litter size to 3 pups per mother), and their respective control. The control (vehicle) and diabetic groups were followed up to 90 days of age, with periodic evaluations of weight, length, and glucose tolerance test at 80 days, and then euthanized. The control and obese groups were followed up to 240 days, with the same parameters evaluated. After euthanasia, blood was collected from all animals for analysis of serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6. **Result:** It was observed that TNF- $\alpha$  expression was significantly increased in both obese and diabetic animals compared to their respective controls; in contrast, IL-6 showed a statistically significant increase only in the diabetic group when compared to the vehicle, with no differences in the obesity model compared to the control. Furthermore, a direct comparison between the models showed a greater elevation of TNF- $\alpha$  in diabetic rats compared to obese rats, while IL-6 did not show a significant difference between the two groups. **Conclusion:** TNF- $\alpha$  in inflammation associated with obesity and T2DM validates its usefulness as a more sensitive biomarker in these experimental models. IL-6 requires further investigation, especially in the context of obesity and also in diabetes in animal models.

**KEYWORDS** – Obesity. Type 2 diabetes mellitus. TNF- $\alpha$ . IL-6.

## INTRODUÇÃO

A obesidade e o diabetes melito tipo 2 (DM2) figuram entre as principais epidemias metabólicas contemporâneas, com crescimento acentuado nas últimas décadas em âmbito global, inclusive no Brasil. Essas condições compartilham desequilíbrio metabólico crônico, associado à inflamação de baixo grau, resistência à insulina e maior risco. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a prevalência global da obesidade quase triplicou entre 1975 e 2016, com mais de 650 milhões de adultos obesos atualmente, dentro de um grupo de cerca de 2 bilhões com sobrepeso.<sup>1,2</sup>

Entre 2006 e 2020, a prevalência observada do tipo 2 em brasileiros com mais de 25 anos aumentou de 10,8% para 13,7%, com crescimento tanto entre homens (de 11,0% para 19,1%) quanto entre mulheres (de 10,6% para 21,3%). Projeções indicam que, se mantida essa tendência, até 2036 a prevalência geral poderá alcançar 27%, sendo de 17,1% em homens e impressionantes 35,9% em mulheres. Ao simular queda da obesidade - principal fator de risco - em um primeiro momento, redução de 1% ao ano na obesidade a prevalência do diabetes cairia de 26,3% para 23,7% até 2036 (redução de 10%); em um segundo, mais otimista, com queda de 5% ao ano, a prevalência cairia para 21,2% (redução de 19,4%). Apesar desses possíveis avanços, autores concluem que, mesmo com medidas eficazes de combate à obesidade, o diabetes tipo 2 continuará sendo desafio importante para a saúde pública no Brasil.<sup>3</sup>

A obesidade e o DM2 são distúrbios metabólicos de elevada prevalência em todo o mundo, frequentemente inter-relacionados e caracterizados por estado de inflamação

crônica de baixo grau. Evidências crescentes indicam que essa inflamação sistêmica exerce papel central na fisiopatologia da resistência à insulina, na disfunção endotelial e na progressão das complicações metabólicas. Esse processo inflamatório crônico ocorre em tecidos-alvo da insulina, como o tecido adiposo, o fígado, o músculo esquelético e ilhotas pancreáticas. Diante desse cenário, surgiu o termo “imunometabolismo”, que descreve a interação entre os processos imunológicos e os distúrbios metabólicos. Esse mecanismo envolve a ativação de macrófagos pró-inflamatórios e de outras células do sistema imune residentes nos tecidos metabólicos, os quais contribuem para o estabelecimento e a manutenção da inflamação crônica de baixo grau.<sup>4</sup>

Entre os principais mediadores inflamatórios envolvidos nesse processo, destacam-se o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e a interleucina-6 (IL-6), citocinas pró-inflamatórias amplamente reconhecidas por sua participação na modulação do metabolismo da glicose e dos lipídios, além de influenciarem diretamente a sinalização da insulina.<sup>5</sup> Níveis elevados dessas citocinas têm sido relatados em humanos e modelos animais com obesidade ou DM2, sugerindo correlação direta com a gravidade do comprometimento metabólico.<sup>6</sup>

Modelos experimentais em roedores, nos quais a obesidade e o DM2 são induzidos de forma controlada, por meio de dietas hiperlipídicas ou combinações com agentes químicos, representam ferramentas amplamente empregadas para investigar, de maneira padronizada e reprodutível, os mecanismos imunometabólicos subjacentes a essas doenças.<sup>7</sup>

Nestes modelos, a dosagem sérica de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  e a IL-6, permite a avaliação quantitativa do grau de inflamação sistêmica presente em cada condição experimental, colaborando significativamente para o entendimento da interface entre inflamação e regulação metabólica.<sup>8</sup>

Em indivíduos obesos e em modelos animais de obesidade induzida, verifica-se acúmulo de macrófagos ativados no tecido adiposo, os quais secretam elevadas quantidades de TNF- $\alpha$  e IL-6 — mediadores que interferem diretamente na sinalização da insulina, promovendo resistência insulínica.<sup>9</sup>

Essas citocinas refletem, portanto, o estado inflamatório sistêmico e têm correlação direta com a gravidade do comprometimento metabólico, inclusive em estudos que objetivam a avaliação de intervenções terapêuticas ou preventivas.<sup>10</sup>

Dessa forma, esta pesquisa se justifica pela necessidade de aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos inflamatórios envolvidos na obesidade e no DM2, com o objetivo de subsidiar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas à modulação da resposta inflamatória nesses distúrbios metabólicos complexos. Assim, definiu-se analisar os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 em ratos com diabetes e obesidade induzidas, a fim de investigar a resposta inflamatória associada a essas condições metabólicas, validando-as com marcadores inflamatórios TNF- $\alpha$  e IL-6 em modelos experimentais de ratos obesos e diabéticos que poderá servir a estudos futuros de medicamentos para o controle metabólico e prevenção de complicações.

## MÉTODO

Este é estudo experimental cujo projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas (CEUA-UFPR), sob número de protocolo 23075.065293/2022-16, respeitando as normas técnicas de pesquisa e experimentação animal e a Lei 11794 / 2008.

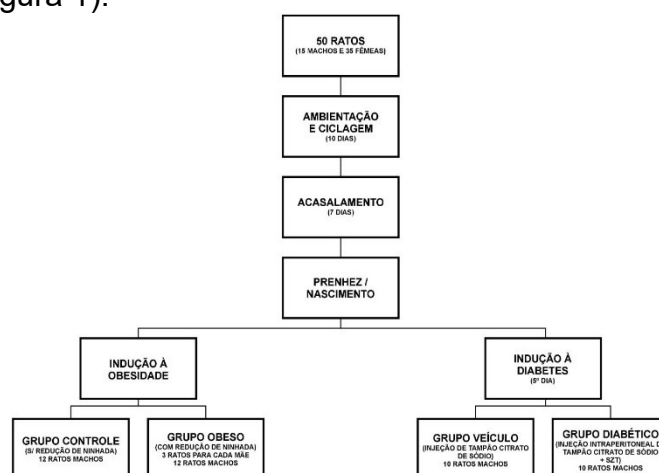
### A amostra

Foram solicitados ao Biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, Curitiba, PR,

Brasil, 50 ratos machos da linhagem Wistar, *Rattus norvegicus*, var. *albinus*, sendo 15 machos e 35 fêmeas. Após período de 10 dias de ambientação dos machos e fêmeas, mantidos separados, iniciou-se a fase de ciclagem, com duração de 1 semana. Esse processo consistiu na troca de maravalha entre as gaiolas dos machos e das fêmeas, com o objetivo de expor as fêmeas aos feromônios presentes na maravalha dos machos, estimulando assim o estro por meio do efeito Whitten.<sup>11</sup>

Após a ciclagem os animais foram pareados na proporção de 1 macho para cada fêmea, permanecendo juntos por 7 dias. Em seguida, os machos foram separados, e as fêmeas passaram a ser observadas diariamente para identificação de sinais de prenhez, como aumento do volume abdominal e comportamento mais calmo.

Para a indução do diabetes, após o nascimento, foram selecionados 20 filhotes machos. Esses filhotes foram distribuídos aleatoriamente, sendo 10 destinados ao grupo veículo e 10 ao grupo diabetes, permanecendo todos com suas respectivas mães conforme fluxograma abaixo (Figura 1).



**FIGURA 1** - Fluxograma da distribuição dos animais e grupos

### Indução do diabetes

No quinto dia pós-natal, os ratos selecionados aleatoriamente para o grupo diabético foram submetidos à indução de DM2 com estreptozotocina (STZ), administrada por aplicação intraperitoneal (Figura 2A), na concentração de 100 mg/kg, dissolvida em tampão citrato 10 mM (pH 4,5, Figura 2B). Já os filhotes do grupo controle (veículo) foram tratados apenas com o tampão citrato de sódio. Após a aplicação das substâncias, todos os filhotes foram imediatamente reintegrados às suas respectivas mães.

Durante os 80 dias subsequentes, todos os animais foram pesados e medidos semanalmente. Ao final desse período, tanto o grupo controle quanto o diabético foram submetidos ao TTG com o objetivo de confirmar o desenvolvimento do quadro diabético. Para a realização do TTG, após jejum de 10 h, os animais foram submetidos à sedação com isoflurano para sobrecarga de glicose (75 mg/100 g de peso), administrada por via endovenosa através da veia dorsal do pênis. O sangue para mensuração da glicemia foi coletado através de pequeno corte na cauda com lâmina de bisturi nos tempos 0, 5, 15, 30, 60 e 120 min utilizando-se glicosímetro digital (*One Touch Ultra*<sup>®</sup>).

Aos 90 dias de idade, os animais foram eutanasiados por decapitação. Em seguida, o sangue foi coletado em tubos contendo heparina e centrifugado a 4.528 G por 7 min para a obtenção do plasma. As alíquotas de plasma foram então armazenadas em freezer a -80 °C para análises da IL-6 e TNF- $\alpha$ .

O ganho de massa corporal dos animais foi monitorado por meio de pesagens

semanais, realizadas individualmente com o auxílio de balança digital modelo GEHAKA 350 (Figura 2C).

### Teste de tolerância à glicose

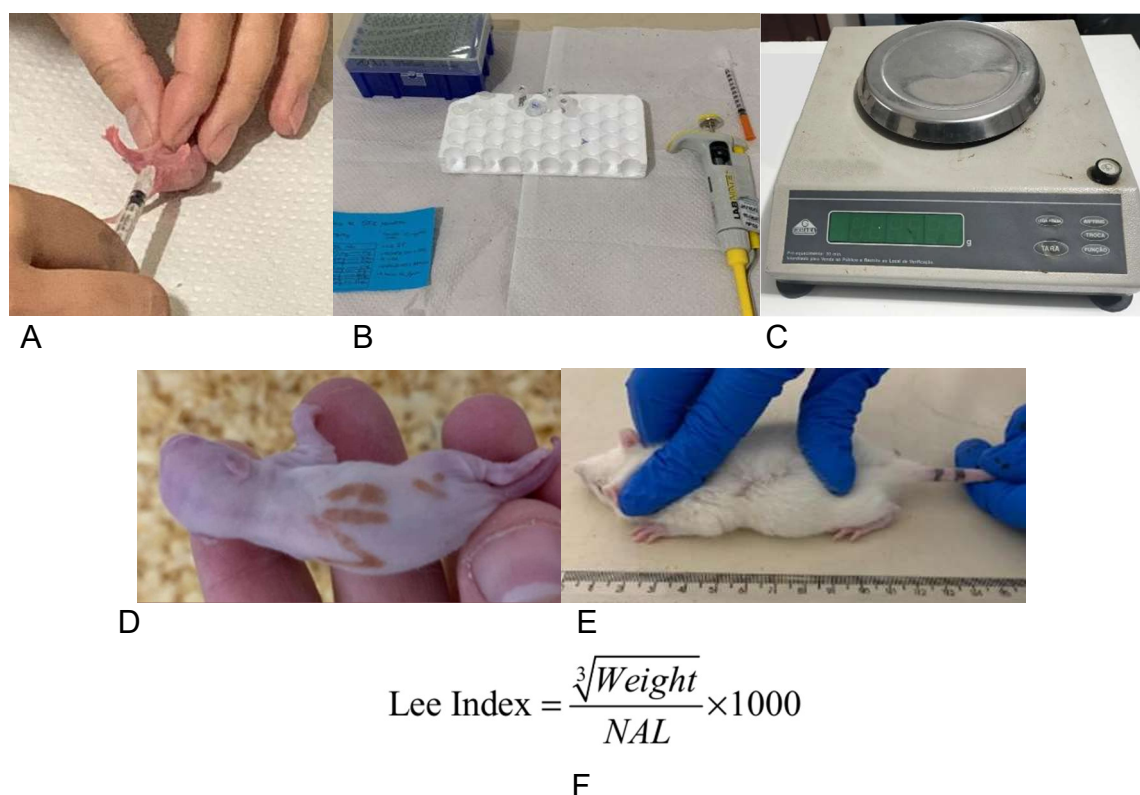
Para a realização do TTG os animais foram submetidos a jejum prévio de 8-12 h e, em seguida, anestesiados por inalação de isoflurano diluído em água na proporção de 1:2, com tempo máximo de exposição de 1 min. Após a anestesia, foi administrada sobrecarga de glicose na dose de 75 mg por 100 g de massa corporal, por via IV através da veia peniana dorsal.

A glicemia foi medida em diferentes tempos (0 – basal, antes da administração, 5, 15, 30, 60 e 120 min) utilizando sangue obtido por punção na extremidade distal da cauda, realizada com lâmina de bisturi nº 11. As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas por meio de glicosímetro digital (*One Touch Ultra*<sup>®</sup>).

### Indução da obesidade

Para esta etapa foram seguidos os mesmos protocolos de acasalamento. Ao nascimento, foram aleatoriamente separados, 3 animais recém-nascidos machos para cada mãe, totalizando 12 animais para grupo obeso e 12 para grupo controle que permaneceram com a ninhada completa. Todos os filhotes receberam identificação individual (Figura 2D).

O restante dos filhotes foram sacrificados para coleta e material necessário para outro estudo. Os animais do grupo controle permaneceram com a ninhada original (sem redução). Os filhotes dos grupos obeso e controle foram pesados e medidos semanalmente (Figura 2E) até o desenvolvimento do quadro de obesidade, sendo posteriormente calculado o índice de Lee, por meio da fórmula apresentada na Figura 2F.



**FIGURA 2** – A) Aplicação intraperitoneal da SZT; B) material utilizado no preparo da SZT e do veículo; C) pesagens dos animais para monitoramento do ganho de peso; D) identificação dos filhotes; E) medição do comprimento nasoanal; F) fórmula do Índice de Lee (Tabushi et al. 2016<sup>12</sup>)

Aos 80 dias de vida, tanto os animais induzidos à obesidade quanto os pertencentes ao grupo controle foram submetidos ao TTG, seguindo o mesmo protocolo utilizado no experimento de indução ao diabetes. O sacrifício dos animais foi realizado aos 240 dias de vida, por meio de decapitação utilizando guilhotina apropriada (Figura 8). Da mesma forma, foi coletado sangue dos animais para análise dos níveis de IL-6 e TNF- $\alpha$ . Também foram coletadas as gorduras retroperitoneal e gonadal desses animais para realização de outros estudos em andamento.

Para ensaio imunoenzimático, os kits ELISA foram importados da empresa FastBio Ltda, CNPJ 13.687.697/0001-62, localizada em Ribeirão Preto, SP, Brasil. O procedimento de análise das amostras plasmáticas foi realizado pela empresa LEAC, CNPJ 31283874/0001-27. As amostras de plasma, coletadas na eutanásia, foram armazenadas em freezer a -80 °C, e transportadas em gelo seco para mensuração da concentração plasmática da citocina pró-inflamatória TNF- $\alpha$  e IL-6, através da análise imunoenzimático (ELISA) seguindo as instruções do fabricante (BIOMATIK, Ontário, Canadá).

### **Análise estatística**

Para a escolha dos testes estatísticos relativos a variáveis quantitativas, os dados foram avaliados quanto ao padrão de normalidade (teste de Shapiro-Wilk). Os dados foram considerados paramétricos e analisados através da ANOVA de 2 vias com medidas repetidas seguidas pelo pós teste de Bonferroni para as análises de CNA, peso e índice de Lee. Além disso, analisaram-se os dados de ELISA e peso das gorduras mesentérica e retroperitoneal através do teste T de Student. As diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significativas para  $p \leq 0,05$ .

## **RESULTADO**

Aos 80 dias foi realizado o TTG nos grupos diabético e veículo, com o objetivo de confirmar o desenvolvimento do quadro diabético. Observou-se intolerância à glicose nos diabéticos, evidenciada pela incapacidade de utilização adequada da glicose nesse grupo, com diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ , Figura 3A).

A comparação do ganho de peso entre os grupos obeso e controle não revelou diferença estatisticamente significativa (Figura 3B). Em relação ao índice de Lee, a comparação entre os grupos obeso e controle revelou diferença estatisticamente significativa apenas aos 30 dias, não sendo observadas diferenças significativas nos demais períodos avaliados até 240 dias (Figura 3J).

Entretanto, a análise da gordura retroperitoneal revelou diferença estatisticamente significativa entre o grupos obeso e o scontrol (  $*p \leq 0,05$ ), com maior porcentagem relativa ao peso corporal no grupo obeso. Esse achado confirma a eficácia do método de redução de ninhada na indução experimental de obesidade em ratos (Figura 3C).

A concentração plasmática de IL-6 foi determinada por meio do método ELISA. A comparação entre os grupos veículo e diabético evidenciou aumento significativo dos níveis de IL-6 no grupo diabético ( $p \leq 0,05$ ; teste t de Student). Os dados estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (Figura 3D).

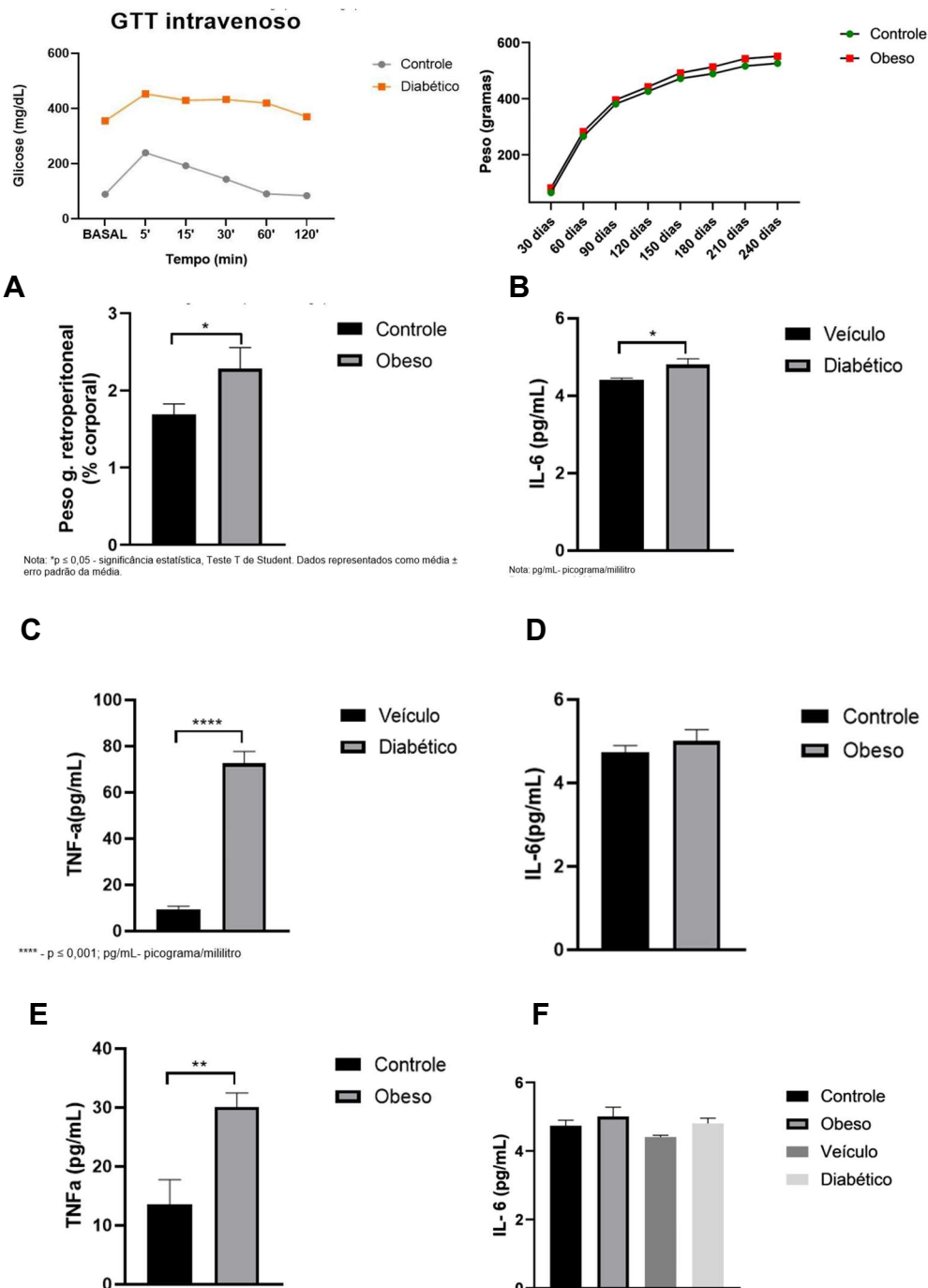
Ao comparar a concentração plasmática de TNF- $\alpha$  entre os grupos veículo e diabético, através do método ELISA, revelou-se níveis significativamente mais elevados no grupo diabético ( $p \leq 0,001$ ; teste t de Student, Figura 3E).

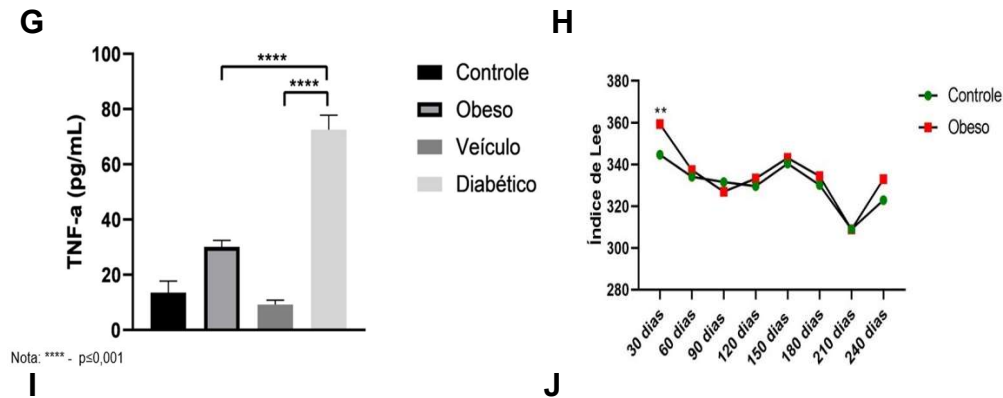
Análise do IL-6 plasmática dos grupos obeso e controle não revelou diferença estatisticamente significativa, indicando que os níveis de IL-6 foram semelhantes entre ambos os grupos (Figura 3F).

A análise dos níveis de TNF- $\alpha$  revelou diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e obeso ( $p \leq 0,01$ ), com valores aumentados no grupo obeso (Figura 3G).

Comparando-se animais dos grupos controle, obeso, veículo e diabético não observou-se diferenças estatísticas, indicando que a quantidade de IL-6 encontrada foi semelhante entre os 2 grupos. Para a análise estatística, utilizou-se o teste ANOVA de 1 via, seguido do pós-teste de Bonferroni (dados representados como média  $\pm$  erro padrão da média, Figura 3H).

Comparando-se animais dos grupos controle, obeso, veículo e diabético observaram-se diferenças estatísticas significativas, indicando que a quantidade de TNF- $\alpha$  encontrado no grupo diabético foi maior quando comparado ao seu veículo e também quando comparado ao modelo de obesidade ( $****p \leq 0,001$ ; utilizou-se o teste estatístico Anova de 1 via seguida pelo pós-teste de Bonferroni, Figura 3I).





**FIGURA 3** – A) Teste de tolerância à glicose dos grupos veículo e grupo diabético; B) ganho de peso dos grupos obeso e controle; C) peso da gordura retroperitoneal dos grupos obeso e controle; D) níveis séricos da il-6 dos grupos veículos e diabético; E) níveis séricos de TNF- $\alpha$  dos grupos veículo e diabético; F) níveis séricos da IL-6 dos grupos controle e obeso; G) níveis plasmáticos dos grupos controle e obeso; H) níveis plasmáticos dos grupos controle, obeso, veículos e diabético; I) comparação dos níveis plasmáticos dos grupos controle, obeso, veículo e diabético; J) comparação do índice de Lee entre os grupos obeso e controle

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo confirmam a eficácia do modelo experimental de redução de ninhada como método de indução à obesidade em ratos durante o período pós-natal. A suplementação precoce, decorrente da diminuição do número de filhotes por ninhada, promoveu ambiente de hipernutrição durante a fase de lactação, favorecendo o acúmulo precoce de tecido adiposo retroperitoneal nos animais do grupo experimental. Essa condição está de acordo com o que é descrito na literatura, onde a restrição do número de filhotes por mãe resulta em maior acesso ao leite materno, gerando excesso de aporte calórico nas primeiras semanas de vida, o que por sua vez estimula adipogênese, hipertrofia de adipócitos e alterações na programação metabólica.<sup>13</sup>

Estudos prévios demonstraram que o excesso de nutrição no período neonatal pode impactar de forma duradoura os mecanismos de regulação energética, principalmente por alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e na sensibilidade à leptina e insulina, o que favorece o desenvolvimento de síndrome metabólica na vida adulta.<sup>14</sup>

Estudo utilizando o modelo experimental de indução à obesidade com sacarose diluído na água mostrou-se eficaz com aumento de peso corporal, porém sem diferença estatística quando se comparou o índice de Lee do grupo obeso com o grupo controle.<sup>12</sup>

Neste estudo, embora não tenha sido identificada diferença estatisticamente significativa no ganho de peso corporal e, conseqüentemente, no índice de Lee entre os grupos controle e obeso, foi observado que os animais do grupo obeso apresentaram acúmulo significativamente maior de gordura retroperitoneal. Esse achado reforça a redução de ninhada como método eficaz e validado para a indução experimental de obesidade em ratos.

Além disso, a eficácia do modelo foi evidenciada pelo fato de que a obesidade induzida ocorreu sem a necessidade de dietas hipercalóricas ou manipulações farmacológicas, o que confere ao modelo simplicidade, baixo custo e boa reprodutibilidade, sendo modelo translacional importante para refletir aspectos da realidade humana, como a exposição à superalimentação nos primeiros meses de vida.

Estes resultados positivos em relação à indução de obesidade através da redução de

ninhada reforçam a robustez do modelo como ferramenta experimental, mas também destacam a importância do período neonatal na determinação do estado metabólico futuro. Estudos complementares que avaliem parâmetros hormonais, inflamatórios e histológicos poderão ampliar a compreensão dos mecanismos envolvidos nessa forma de indução à obesidade e suas repercussões sistêmicas.

Neste estudo, optou-se pela utilização do modelo experimental de indução ao DM por meio da administração intraperitoneal de STZ, estratégia amplamente validada na literatura científica para simular, em roedores, aspectos fisiopatológicos compatíveis com o diabetes.

STZ, nitrosourea derivada da glucosamina, possui alta afinidade pelas células  $\beta$ -pancreáticas, sendo captada pelo transportador GLUT2. Sua ação citotóxica resulta em destruição seletiva dessas células, levando à deficiência na produção de insulina e consequente hiperglicemia persistente.<sup>15,16</sup>

Os resultados obtidos demonstraram que o protocolo empregado foi eficaz para a indução da condição diabética nos animais, como evidenciado pelos níveis elevados de glicose sanguínea, confirmando a validade do modelo.

Apesar da eficácia do protocolo, foi observada taxa de mortalidade em parte dos animais nas primeiras 48 h após a administração da STZ, o que representa limitação relevante desse método.

A toxicidade sistêmica da STZ é fator conhecido e relatado em diversos estudos, especialmente quando há variabilidade na dose, peso dos animais ou inconsistência na manipulação e preparo da substância. Além da toxicidade pancreática, STZ pode induzir nefrotoxicidade e hepatotoxicidade, o que contribui para o aumento da letalidade, principalmente quando não são empregados tampões adequados para seu preparo ou quando não se realiza monitorização rigorosa dos animais no período pós-indução.<sup>17,18</sup>

É importante ressaltar que, embora existam outras estratégias de indução ao diabetes em modelos animais como a pancreatectomia parcial, a administração de AL ou a combinação de dieta hipercalórica com baixas doses de STZ para simular o DM2, a escolha pela STZ intraperitoneal foi motivada por sua rapidez, baixo custo e especificidade para células  $\beta$ , além de permitir a obtenção de quadro hiperglicêmico agudo com alta previsibilidade nos parâmetros metabólicos avaliados.

Assim como a via de administração da STZ que poderia ser subcutânea, intramuscular ou intracardíaca, mas neste estudo optou-se pela via intraperitoneal. Dessa forma, os dados obtidos reforçam a efetividade do modelo de STZ intraperitoneal como método de indução ao diabetes em roedores, mas também alertam para a necessidade de refinamentos técnicos no manejo da substância e nos cuidados pós-indução. Estratégias como o uso de tampão citrato pH4,5 recém-preparado, administração em jejum, e acompanhamento intensivo nas primeiras horas após a injeção podem contribuir para a redução da mortalidade e maior homogeneidade dos grupos experimentais.<sup>19</sup>

Tais medidas são fundamentais para garantir a reprodutibilidade e a validade ética e científica do modelo experimental adotado.

A investigação da resposta inflamatória por meio da análise dos níveis séricos de TNF- $\alpha$  e IL-6 em modelos experimentais de obesidade e DM2 representa abordagem fundamental para compreender os mecanismos imunometabólicos subjacentes a essas doenças crônicas. Ambas as condições estão associadas a estado de inflamação crônica de baixo grau, caracterizado pela produção persistente de citocinas pró-inflamatórias, as quais contribuem para a resistência à insulina, disfunção endotelial e desenvolvimento de complicações metabólicas.<sup>20</sup>

Neste estudo foi possível analisar os níveis séricos de TNF- $\alpha$  e IL-6 em ratos diabéticos e obesos, permitindo avaliar comparativamente a expressão desses marcadores inflamatórios entre os grupos e identificar aqueles com maior intensidade de resposta

inflamatória.

Já em 2013 estudos afirmavam que os modelos animais, particularmente os roedores com obesidade e DM2 induzidas, oferecem sistema padronizado e controlado para validar biomarcadores inflamatórios, como TNF- $\alpha$  e IL-6, permitindo não apenas a caracterização do perfil inflamatório, mas também a avaliação de possíveis intervenções terapêuticas.<sup>21</sup>

Aqui, essa afirmação foi parcialmente corroborada, uma vez que tanto nos ratos obesos quanto nos diabéticos a expressão de TNF- $\alpha$  foi significativamente maior em comparação aos respectivos grupos controles. Em relação à IL-6, observou-se aumento estatisticamente significativo apenas no grupo diabético em relação ao grupo veículo, embora sejam necessários estudos adicionais com amostras maiores para confirmar esse achado. No grupo obeso, não foram identificadas diferenças significativas nos níveis de IL-6 em comparação ao grupo controle.

A validação desses marcadores é especialmente relevante no contexto do desenvolvimento de novos fármacos voltados ao controle do processo inflamatório e à prevenção das complicações associadas, como nefropatias, neuropatias e doenças cardiovasculares. Assim, este estudo contribui de forma significativa para o avanço do conhecimento na interface entre inflamação e metabolismo, além de fornecer subsídios experimentais para pesquisas translacionais voltadas à saúde pública.

Estudos futuros com maior número amostral são recomendados, especialmente para esclarecer o papel da IL-6 e seu potencial impacto no controle metabólico e na prevenção de complicações.

## CONCLUSÃO

A expressão de TNF- $\alpha$  apresentou-se significativamente aumentada em animais obesos e diabéticos em relação aos controles, com elevação ainda maior nos diabéticos quando comparados aos obesos, enquanto a IL-6 apresentou aumento apenas no grupo diabético em relação ao veículo, sem diferenças no modelo obeso. Esses achados reforçam o papel central do TNF- $\alpha$  na inflamação associada à obesidade e ao DM2, validando sua utilidade como biomarcador mais sensível nesses modelos experimentais.

## REFERÊNCIAS

1. De Baat A, Trinh B, Ellingsgaard H, Donath MY. Physiological role of cytokines in the regulation of mammalian metabolism. *Trends Immunol.* 2023;44(8):613-272. <https://doi.org/10.1016/j.it.2023.06.002>
2. Deutschbein T, Reimondo G, Dalmazi GD, Bancos I, Patrova J, Vassiliadi DA, et al. Age-dependent and sex-dependent disparity in mortality in patients with adrenal incidentalomas and autonomous cortisol secretion: an international, retrospective, cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022;10(7):499-508. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(22\)00100-0](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(22)00100-0)
3. Moreira PVL, Neta A da CP de A, Ferreira FELL, de Araújo JM, Rodrigues RE de A, de Lima RLFC, et al. Predicting the prevalence of type 2 diabetes in Brazil: modeling study. *Front Public Health.* 2024;12:1275167. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1275167>
4. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity.* 2022;55(1):31-55. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>
5. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259(5091):87-91. <https://doi.org/10.1126/science.7678183>
6. Kim J, Bachmann RA, Chen J. Interleukin-6 and insulin resistance. In: Litwack G, editor. *Vitamins and hormones.* 2009;80:613-33. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(08\)00621-3](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(08)00621-3)
7. Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C, et al. Chronic adipose tissue inflammation linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Front Physiol.* 2020;10:1607. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01607>
8. Gkrinia EMM, Belančić A. The mechanisms of chronic inflammation in obesity and potential therapeutic strategies: a narrative review. *Curr Issues Mol Biol.* 2025;47(5):357. <https://doi.org/10.3390/cimb47050357>
9. Hildebrandt X, Ibrahim M, Peltzer N. Cell death and inflammation during obesity: "Know my methods, WAT(son)". *Cell Death Differ.* 2023;30:279-92. <https://doi.org/10.1038/s41418-022-01062-4>
10. Mandal M, Al Mamun MA, Rakib A, Singh UP. High-fat diet-induced adipose tissue-resident macrophages, T cells,

- and dendritic cells modulate chronic inflammation and adipogenesis during obesity. *Front Immunol.* 2025;16:1524986. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1524986>
11. Mattaraia VGM, da Silva APR, Sartori DR da S, Tavora M de FCLF, Rodrigues VB, Moreira VB, et al. Efeito macho na indução do estro em ratas Wistar (*Rattus norvegicus*). *Vet Zootec.* 2009;16(4):669-77. Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/1266>
  12. Tabushi FT, Scomparin RC, Machado RS, Oliveira BC, Silva-Filho VJ, Coelho FF, et al. Vertical gastrectomy in overweight and non-overweight rats. *Acta Cir Bras.* 2016;31(10):689-96. <https://doi.org/10.1590/S0102-865020160100000008>
  13. Plagemann A, Heidrich I, Gotz F, Rohde W, Dorner G. Lifelong enhanced diabetes susceptibility and obesity after temporary intrahypothalamic hyperinsulinism during brain organization. *Exp Clin Endocrinol.* 1992;99(2):91-5. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1211143>
  14. Coupé B, Ishii Y, Dietrich MO, Komatsu M, Horvath TL, Bouret SG. Loss of autophagy in pro-opiomelanocortin neurons perturbs axon growth and causes metabolic dysregulation. *Cell Metab.* 2012;15(2):247-55. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.12.016>
  15. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50(6):537-46.
  16. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(2):216-26. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
  17. Yang H, Scheff AJ, Schalch DS. Effects of streptozotocin-induced diabetes mellitus on growth and hepatic insulin-like growth factor I gene expression in the rat. *Metabolism.* 1990;39(3):295-301. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(90\)90050-M](https://doi.org/10.1016/0026-0495(90)90050-M)
  18. Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Curr Protoc Pharmacol.* 2015;70:5.47.1-20. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0547s70>
  19. Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes.* 1976;25(5):595-603. <https://doi.org/10.2337/diab.25.7.595>
  20. Hotamisligil GS. Foundations of immunometabolism and implications for metabolic health and disease. *Immunity.* 2017;47(3):406-420. doi: <http://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.08.009>
  21. Akash MS, Rehman K, Chen S. Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Cell Biochem.* 2013;114(3):525-31. <https://doi.org/10.1002/jcb.24402>

## Este preprint foi submetido sob as seguintes condições:

- Os autores declaram que os necessários Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de participantes ou pacientes na pesquisa foram obtidos e estão descritos no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que a elaboração do manuscrito seguiu as normas éticas de comunicação científica.
- Os autores declaram que estão cientes que são os únicos responsáveis pelo conteúdo do preprint e que o depósito no SciELO Preprints não significa nenhum compromisso de parte do SciELO, exceto sua preservação e disseminação.
- Os autores declaram que os dados, aplicativos e outros conteúdos subjacentes ao manuscrito estão referenciados.
- O manuscrito depositado está no formato PDF.
- Os autores declaram que a pesquisa que deu origem ao manuscrito seguiu as boas práticas éticas e que as necessárias aprovações de comitês de ética de pesquisa, quando aplicável, estão descritas no manuscrito.
- Os autores declaram que uma vez que um manuscrito é postado no servidor SciELO Preprints, o mesmo só poderá ser retirado mediante pedido à Secretaria Editorial do SciELO Preprints, que afixará um aviso de retratação no seu lugar.
- Os autores concordam que o manuscrito aprovado será disponibilizado sob licença [Creative Commons CC-BY](#).
- O autor submissor declara que as contribuições de todos os autores e declaração de conflito de interesses estão incluídas de maneira explícita e em seções específicas do manuscrito.
- Os autores declaram que o manuscrito não foi depositado e/ou disponibilizado previamente em outro servidor de preprints ou publicado em um periódico.
- Caso o manuscrito esteja em processo de avaliação ou sendo preparado para publicação mas ainda não publicado por um periódico, os autores declaram que receberam autorização do periódico para realizar este depósito.
- O autor submissor declara que todos os autores do manuscrito concordam com a submissão ao SciELO Preprints.