

**VELOCIDADE DE CRESCIMENTO A PARTIR DO PESO CORPORAL
DE RATOS MACHOS WISTAR****Marco Antonio Cossio Bolaños¹,
Miguel de Arruda¹****RESUMO**

O objetivo do presente estudo foi determinar o pico de velocidade do crescimento físico a partir do peso corporal em ratos machos, sendo selecionadas de forma não-probabilística (acidental) 25 ratos machos da linhagem Wistar de 3 semanas (21 dias de idade) avaliando-se o peso corporal (g) cada semana, até as 16 semanas de vida. Para as análises estatísticas foram utilizadas a estatística descritiva da média (X) e desvio padrão (DP) e para determinar as diferenças entre as idades utilizou-se ANOVA two way e a prova de especificidade de Tukey ($p < 0,001$). Os resultados mostram que o pico de velocidade de crescimento avaliado através do peso corporal foi aos 42 dias, permitindo distinguir três fases de crescimento e desenvolvimento biológico, sendo a fase inicial, intermédia e final, os quais poderiam ajudar a selecionar grupos específicos de pesquisa.

Palavras-chave: Ratos, crescimento, desenvolvimento.

1- Departamento de Ciências del deporte de la FEF, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil.

ABSTRACT

Velocities of growth when the body weight of rats mainly wistar

The aim of this study was to determine the peak velocity of physical growth from body weight in male rats were selected in a non-probabilistic (accidental) 25 male Wistar rats of 3 weeks (21 days old) evaluating body weight (g) each week until the 16 weeks of life. For the statistical analysis used descriptive statistics of the mean (X) and standard deviation (SD) and to determine differences between ages were used two-way ANOVA and proof of specific tests ($p < 0.001$). The results show that the peak growth rate measured by weight was at 42 days, it defines three stages of growth and biological development, and possibly the initial, middle and end, which could help to select specific research groups

Key Words: Rats, growth, development.

Endereço para correspondência:

Msc. Marco Cossio Bolaños
mcossio1972@hotmail.com

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Educação Física

Av. Erico veríssimo 701, Cidade Universitária –
13083-851

Caixa Postal 6134. Campinas, São Paulo,
Brasil.

INTRODUÇÃO

O crescimento físico é um processo dinâmico que ocorre durante toda a vida desde a concepção até a morte (Malina, Bouchard e Bar-Or, 2004), sendo definido como um aumento no número e tamanho das células que compõem os diversos tecidos do organismo (Enesco e Leblond, 1962; Layman, Hegarty e Swan, 1979; Tani, Manoel, Kokubum e Proença, 1988), fruto da hiperplasia (aumento no número de células), hipertrofia (aumento no tamanho de células) e a agregação (capacidade dos substratos intercelulares em agregar as células) (Roche, 1986; Malina e Bouchard, 2004). Esses processos de crescimento já foram alertados há muito tempo atrás por Enesco e Leblond (1962), pesquisando o crescimento físico em ratos, que apresentam três fases: a fase inicial denominada hiperplasia, que compreende os primeiros 17 dias de idade; a fase intermédia (hiperplasia-hipertrofia), desde os 17 até os 48 dias de idade e a fase final (armazenagem) desde os 48 aos 160 dias respectivamente.

Nesse sentido, os modelos animais tornam-se uma importante ferramenta para o estudo de condições que afetam os humanos e que podem ser simulados em ratos (Diemen, Trindade e Trindade, 2006), os quais são comumente usados como modelos experimentais de pesquisa nos laboratórios (Harari, Hermolin e Harari, 2005) em fisiologia reprodutiva (Lee, De Kretser, Hudson e Wang, 1974), em patologias nutricionais (Popp, Seoras, Morrison e Brennan, 1982, Goodgame, Lowry e Brennan, 1978), nutrição alimentar (Mazeti e Furlan, 2008), dentre outras linhas, sendo a idade um fator crucial para a análise dos resultados (Quinn, 2005).

Portanto, é necessário conhecer as fases do processo de crescimento, desenvolvimento e maturação dos ratos; dado que no momento de transferir os resultados ao modelo humano, estes deverão ocorrer nas mesmas etapas de desenvolvimento.

Finalmente, o objetivo do presente estudo foi determinar o pico de velocidade do crescimento físico a partir do peso corporal em ratos machos wistar, com a intenção de classificar os roedores em estágios de desenvolvimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra e tipo de pesquisa

O estudo é do tipo descritivo de corte longitudinal (Thomas e Nelson, 2002), estudando um grupo específico (cohort) durante o tempo (Glenn, 1977), realizando 14 avaliações do peso corporal (cada semana), até as 16 semanas de vida. Nesse sentido, foram selecionadas de forma não-probabilística (acidental) 25 ratos machos da linhagem Wistar de 3 semanas (21 dias de idade) após período de amamentação, provenientes do Biotério do departamento de farmacologia da UNICAMP, os quais foram mantidos em gaiolas coletivas (5 ratos por gaiola), em ciclo claro/oscuro (12h/12h), em ambiente com temperatura constante ($23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), alimentados livremente com ração e água *ad libitum* e tratados sob os princípios éticos de experimentação animal segundo o COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e aprovado pelo Comitê de Ética da faculdade Medicina da UNICAMP, protocolo no. 1914-1.

Avaliação do peso corporal

Para a avaliação do peso corporal (g) de ratos machos utilizou-se uma balança analítica de marca Scatec modelo SAC-62, com uma precisão de (10-4 gramas). O procedimento consistiu em colocar os animais num frasco leve sobre a balança com o objetivo de avaliar o peso corporal em gramas (g) sem que o animal se movimentasse constantemente. Este procedimento foi repetido por duas vezes no momento da avaliação, mantendo sempre os cuidados necessários de interferências de objetos estranhos e realizando a tara da balança constantemente, para evitar erros na avaliação.

Variabilidade do peso corporal

O peso corporal (g) foi avaliado duas vezes, com o objetivo de observar o erro técnico da medida ETM intra-avaliador $2/2n$. A realização desta técnica permitiu verificar a variabilidade das medidas (peso) e serve como um importante indicador de mensuração. Finalmente, com o objetivo de medir a reprodutibilidade da variável do peso corporal (g) utilizou-se o coeficiente de correlação de

Pearson (r) ($p < 0,001$). Os resultados do ETM e Pearson podem ser observados na tabela 1.

Análises estatísticas

Os resultados do estudo foram processados através da estatística descritiva da média (X) e desvio padrão (DP) e para determinar as diferenças entre as idades utilizou-se ANOVA *two way* e a prova de especificidade de Tukey ($p < 0,001$).

RESULTADOS

Tabela 1- Erro técnico da medida intra-avaliador (ETM) e o coeficiente de reprodutibilidade (r) do peso corporal (g) de ratos machos wistar durante 14 semanas de monitoramento (n=25).

Idade semanas	Idade dias	ETM	r	Eer
3	21	0,707107	0,99119	0,00350746
4	28	0,83666	0,99486	0,00205112
5	35	0,69282	0,99795	0,00081834
6	42	0,707107	0,99814	0,00074373
7	49	0,860233	0,99881	0,00047568
8	56	0,69282	0,99891	0,00043594
9	63	0,787401	0,99832	0,00067254
10	70	0,72111	0,99893	0,00042613
11	77	0,707107	0,99897	0,00041279
12	84	0,69282	0,99914	0,00034340
13	91	0,707107	0,99941	0,00023544
14	98	0,663325	0,99917	0,00033146
15	105	0,692219	0,9991	0,00036133
16	112	0,797724	0,999	0,00039916

Durante o monitoramento do peso corporal (g) dos ratos observou-se uma tendência de aumento do peso durante as 14 semanas de monitoramento, ou seja, desde as 3 semanas até as 16 semanas de idade, respectivamente (Figura 1). Por outro lado, pôde-se observar também que o maior ganho do peso corporal (g) foi da terceira para quarta semana (52,50g). Esse aumento pode ser identificado claramente na figura 2, em que o pico de velocidade do crescimento (peso corporal) observa-se aos 42 dias de vida, produzindo-se, desta forma, mudanças na maturação biológica dos ratos. Entretanto, esses achados poderiam contribuir para uma tentativa de classificação do desenvolvimento a partir de uma perspectiva biológica em fase inicial, intermédia e final, como se ilustra no quadro 1.

O quadro 1, mostra uma tentativa de classificação das fases do crescimento e desenvolvimento biológico dos ratos machos,

O erro técnico da medida (ETM) dos ratos avaliados durante as 14 semanas mostra valores similares durante o tempo, sendo valores aceitáveis para a avaliação do peso corporal. Da mesma forma, quando se aplicou o coeficiente de correlação de Pearson, os valores de (r) mostram bons coeficientes de reprodutibilidade durante o monitoramento do peso corporal. Portanto, estes valores expressam que a avaliação do peso corporal apresentou baixos níveis de ETM e uma alta capacidade de reprodutibilidade.

baseados nos resultados do presente estudo, a partir do pico da velocidade de crescimento do peso corporal, encontrado aos 42 dias de vida. Esta proposta poderia ser levada em consideração pelos pesquisadores no momento de selecionar os grupos específicos de estudo, especialmente quando se trata de populações que ainda se encontram em processo de crescimento e desenvolvimento.

Quadro 1 - Classificação do crescimento e desenvolvimento em fases biológicas de ratos machos, a partir da velocidade de crescimento do peso corporal.

Fases	Classificação	Idade (dias)
Fase inicial	1	21 a 35 dias
Fase intermédia	2	35 a 49 dias
Fase final	3	49 a 112 dias
Adulto	4	>112 dias

Tabela 2- Valores médios (X), desvio padrão (DP) e delta (Δ) da evolução do peso corporal durante 14 semanas de monitoramento do peso corporal (g).

Semanas de monitoramento	Idade Semanas	Idade dias	(Δ)	Peso (g)	
				X	DS
1 ^a	3	21		60,16	7,46
2 ^a	4	28	30,63	90,80	9,74
3 ^a	5	35	47,00	137,76	15,58
4 ^a	6	42	52,50	190,24	15,61
5 ^a	7	49	35,70	225,96	23,42
6 ^a	8	56	27,80	253,72	21,24
7 ^a	9	63	32,90	286,60	18,00
8 ^a	10	70	27,30	313,92	18,49
9 ^a	11	77	27,10	341,00	22,30
10 ^a	12	84	22,60	363,64	22,41
11 ^a	13	91	13,60	377,28	24,41
12 ^a	14	98	13,70	390,96	22,29
13 ^a	15	105	10,10	401,04	21,53
14 ^a	16	112	11,70	412,77	22,22

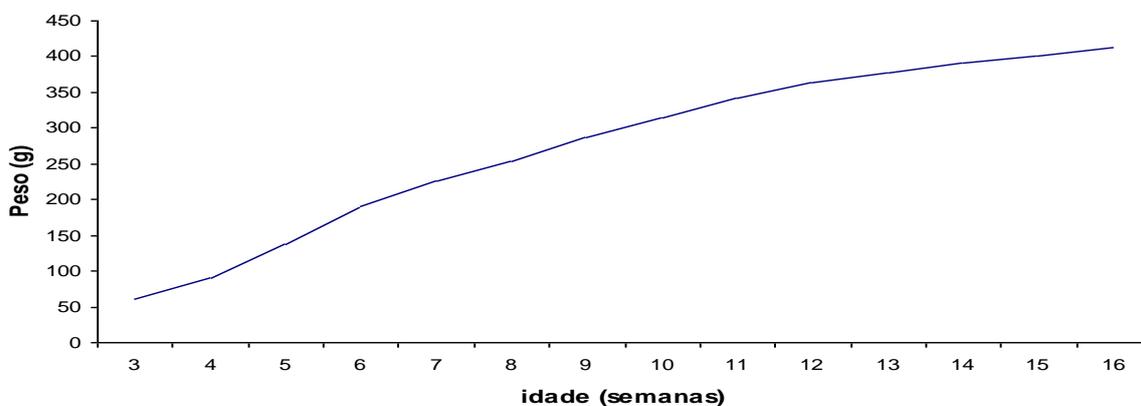


Figura 1- Curva de crescimento longitudinal do peso corporal (g) de ratos machos wistar, desde as 3 às 16 semanas de vida.

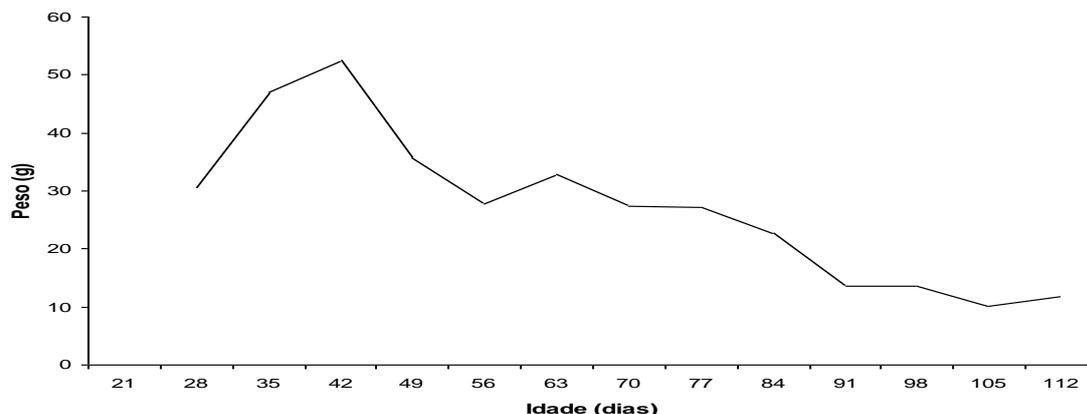


Figura 2- Pico de velocidade do peso corporal (g) de ratos machos wistar, desde os 21 dias até os 112 dias de idade.

DISCUSSÃO

Em estudos de crescimento e desenvolvimento é importante distinguir entre o tamanho absoluto que um animal alcançou numa idade e em determinado estágio maturacional (Hughes e Tanner, 1970), produto das mudanças biológicas que ocorrem de forma seqüencial e ordenada durante a vida (Martin, Uezu, Parra, Arena, Bojikian e Böhme, 2001), levando o ser humano a atingir o estado adulto (Duarte, 1993, Chipkovitch, 2001, Malina, Bouchard e Bar-Or, 2004), sempre que as condições nutricionais sejam normais (Alves, Damaso e Damaso, 2008). Dessa forma, pode-se destacar que existem vários tipos de maturação biológica, como somática, esquelética, dental e sexual (Martin, Uezu, Parra, Arena, Bojikian e Böhme, 2001; Matsudo e Matsudo, 1991) que permitem determinar o estágio maturacional, tanto em modelos humanos como em modelos animais.

Nesse sentido, na presente pesquisa utilizou-se como indicador a avaliação somática, com o objetivo de determinar a velocidade de crescimento através do peso corporal de ratos machos de 3 a 16 semanas, respectivamente. Os resultados mostram que o pico de velocidade de crescimento observava-se aos 42 dias de vida. No entanto, Williams, Tanner e Hughes (1974) encontraram que o aumento do pico de velocidade foi ao redor dos 55 dias, tanto em ratos eutróficos, como em ratos com retardo de crescimento físico.

Por outro lado, Hughes e Tanner (1970) mostraram resultados em relação à maturação esquelética, observando o máximo incremento em ratas femininas aos 31 dias e 33 dias nos machos. No entanto, na maturação sexual os ratos alcançam a maturação aproximadamente aos 50 dias de vida (Lee, De Kretser, Hudson e Wang, 1974) e 48 dias (Clermont, 1972), sendo estes valores relativamente maiores aos encontrados no presente estudo (maiores numa semana). Porém, é necessário ressaltar que o processo de crescimento esquelético termina ao redor dos 120-140 dias em ratos de ambos os gêneros (Hughes e Tanner, 1970), tornando-se adultos acima dessa idade. No presente estudo observa-se esse efeito na curva do pico de velocidade do peso corporal mais cedo, ou seja, a partir dos 105 dias aos 112 dias de idade, onde o peso quase que permanece estável nesse período e,

conseqüentemente, tornando-se adulto. Estes resultados sugerem que o processo de maturação somática vai acompanhado de mudanças morfológicas que não são consideradas pelos pesquisadores, onde muitos estudos avaliam os efeitos dos animais em idades inferiores aos 100 dias. Idade que ainda não são considerados como adultos segundo os resultados do presente estudo e outros estudos que usaram ratos nos seus experimentos com 8 semanas de idade (Santos Silva, Melo e Oliveira, 2007), com 230 gramas (Manzoni, Souza, Tenório e Dâmaso, 2004), com 21 dias (Duarte, Fonseca, Manzoni, Soave, Sene-Fiorese, Damaso e Cheik, 2006), respectivamente.

Nesse sentido, os estudos experimentais que envolvem tratamentos de uma semana ou mais tempo e selecionem ratos com idade inferior a 100 dias devem levar em consideração a classificação do crescimento e desenvolvimento dos ratos em estágios. Isto possibilitaria diferenciar aos roedores durante o processo de crescimento e desenvolvimento, assim como identificar aos animais na fase adulta, como acontece nos humanos.

Estas evidências fazem supor que é necessário desta classificação maturacional, já que a grande similaridade e homologia entre os genomas dos roedores e humanos (Diemen, Trindade e Trindade, 2006) são aproveitadas pelos pesquisadores que trabalham com modelos humanos (Harari, Hermolin e Harari, 2005) nas áreas da nutrição (Mazeti e Furlan, 2008), endocrinologia, farmacologia, bioquímica, entre outras. Porém, deve-se levar em consideração as diferenças na anatomia, fisiologia e desenvolvimento biológico dos ratos (Quinn, 2005), com a intenção de buscar a especificidade no momento de transferir os resultados do modelo animal ao modelo humano, respectivamente.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados na presente pesquisa, conclui-se que o pico de velocidade de crescimento avaliado através do peso corporal foi aos 42 dias, permitindo distinguir três fases de crescimento e desenvolvimento biológico igual ao do ser humano (infância, pubescência e adolescência) e no rato (inicial, intermédia e

final) que poderiam ajudar a selecionar grupos específicos de pesquisa em função do processo de crescimento físico e, conseqüentemente, a transferência ao modelo humano.

REFERÊNCIAS

- 1- Alves, A.; Damaso, A.; Damaso, V. The effects of prenatal and postnatal malnutrition on the morphology, differentiation, and metabolism of skeletal striated muscle tissue in rats. *Jornal de Pediatria*. Vol. 84. Num. 3. 2008.
- 2- Clermont, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Num.* 52. 1972. p. 198-236.
- 3- Chipkovitch, E. Avaliação clínica da maturação sexual na adolescência Clinical assessment of sexual maturation in adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. Num. 77. (Supl.2): 2001. p. S135-S142.
- 4- Diemen, D.; Trindade, E.; Trindade, M. experimental model to induce obesity in rats. *Acta cirúrgica brasileira*. Vol. 21. Num. 6. 2006. p. 425.
- 5- Duarte, M.F.S. Maturação Física: Uma Revisão da Literatura, com Especial Atenção à Criança Brasileira. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro. Vol. 9. Num. (supl.1). 1993. p. 71-84.
- 6- Duarte, A; Fonseca, D; Manzoni, M; Soave, C; Sene-Fiorese, M; Dâmaso, A; Cheik, N. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. *Rev. Nutr., Campinas*. Vol. 19. Num. 3. 2006. p. 341-348.
- 7- Enesco, M.; Leblond, P. Increase in cell number as factor in the growth of the organs and tissues of the young male rat. *J. Embryol.exp. Morph.* Vol. 10. Part4. 1962. p. 530-562.
- 8- Glenn, N.D. Cohort analysis. Beverly Hills, Calif: sage Publications. Serie Quantitative applications in the Social Sciences. Vol. 5. 1977.
- 9- Goodgame, J.T.; Lowry, S.F.; Brennan, M.F. Body weight change and nutritional adequacy in the parenterally alimented rat. *J Surg Res*. Num. 24. 1978. p. 520-526.
- 10- Harari, D.; Hermolin, G.; Harari, O. The effect of age on morphology and eruption pf lower incisors in mature rats. *Archives of Oral Biology*. Num. 50. 2005. p. 953-958.
- 11- Hughes, P.C.R.; Tanner, J.M. The assessment of skeletal maturity in the growing rat. *J. Anat*. Vol. 106. Num. 2. 1970. p. 371-402.
- 12- Layman, D.K.; Hegarty, P.V.J.; Swan, P.B. Comparison of morphological and biochemical parameters of growth in rat skeletal muscles. *J. Anat*. Vol. 130. Num. 1. 1980. p. 159-171.
- 13- Lee, V.W.K.; De Kretser, D.M.; Hudson, B.; Wang, C. Variations in serum fsh, lh and testosterone levels in male rats from birth to sexual maturity. *J, Reprod Fert*. Num. 42. 1975. p. 121-126.
- 14- Martin, R.H.; Uezu, R.; Parra, S.; Arena, S.; Bojikian, L.; Böhme, M. Auto-avaliação da maturação sexual masculina por meio da utilização de desenhos e fotos. *Rev. Paul. Educ. Fís., São Paulo*. Vol. 15. Num. 2. 2001. p. 212-222.
- 15- Malina, R.M.; Bouchard, C.; Bar-Or, O. Growth maturation and physical activity. 2ed. Champaign: Human Kinetcs Books, 2004.
- 16- Manzoni, S; Souza, C; Tenório, N; Dâmaso. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Rev. bras. Educ. Fís. Esp., São Paulo*. Vol. 18. Num. 2. 2004. p. 191-200.
- 17- Matsudo, S.M.M.; Matsudo, V.K.R. Validade de auto-avaliação na determinação da maturação sexual. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*. Vol. 5. Num. 2. 1991. p. 18-35.
- 18- Mazeti, C.M.; Monserrat, Furlán, M.M.D.P. Crescimento e parâmetros reprodutivos de rats wistar, em restrição alimentar desde o nascimento. *Acta Sci. Biol, Sci. Maringá*. Vol. 30. Num. 2. 2008. p. 197-204.

19- Popp, M.B.; Seoras, M.D.; Morrison, D.; Brennan, F. Growth and body composition during long-term total parenteral nutrition in the rat. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Num. 36. 1982. p. 1119-1128.

20- Quinn, D.V.M. Comparing rats to humans age: How old is my rat in people years. *Nutrition*. Num. 21. 2005. p. 775-777.

21- Roche, A. Bone Growth and maturation. In Falkner, F., Tanner, J.M. *Human Growth. A comprehensive Treatise*, 1986, Vol. 2. 1986. p. 25-59.

22- Santos Silva, D; Melo, L; Oliveira, A. Efeito do treinamento físico na massa corporal de ratos. *Motriz*, Rio Claro. Vol. 13. Num. 1. 2007. p. 43-50.

23- Tani, G.; Manoel, E.D.; Kokubum, E.; Proença, J.L. *Educação física escolar. Fundamentos de uma abordagem desenvolvimentista*. São Paulo: EPU, p.50-62, 1988.

24- Thomas. J.; Nelson. J. *Research Methods in Physical Activity*. Human Kinetics, 1996.

25- Willians, J.P.G.; Tanner, J.M.; Hughes, P.C.R. Catch-up growth in male rats after growth retardation during the suckling period. *Pediat. Res*. Vol. 8. 1974. p. 149-156.

Recebido para publicação em 10/11/2009

Aceito em 28/12/2009