

EFEITO DA DIETA HIPERLIPIDICA NO CONSUMO E PERFIL LIPIDICO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA

DRIELE NESKE GARCIA¹; LIGIA ANTUNES PRIETSCH²; JOAO ALVEIRO ALVARADO RINCÓN³; IRAE DE LIMA MOREIRA²; SANDRA COSTA VALLE²; AUGUSTO SCHNEIDER⁴

¹Faculdade de Nutrição – drika_neske@yahoo.com.br

²Faculdade de Nutrição – ligiaprietsch@gmail.com; iraemoreira@gmail.com; sandracostavalle@gmail.com.

³Faculdade de Veterinária (Mestrado) - joaoal13@hotmail.com

⁴Faculdade de Nutrição - augustoschneider@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Entre os fatores de risco clássicos para as doenças cardiovasculares está a dislipidemia, o excesso de colesterol no sangue, o que pode levar a aterosclerose (SMITH, 2006). Diversos estudos indicam uma prevalência de dislipidemia maior no sexo feminino (LESSA, 1997). A paraoxonase 1 (PON1) é uma enzima que está relacionada com a incidência de aterosclerose, sendo uma proteína sintetizada pelo fígado e que está presente no HDL (lipoproteína de alta densidade) e que é capaz de inibir a oxidação do LDL (lipoproteína de baixa densidade). O LDL é a molécula responsável pela disfunção endotelial. Neste sentido, a PON1 oferece proteção contra o risco de aterosclerose e conseqüente doenças cardiovasculares, pois previne a oxidação do LDL e de membranas biológicas em geral (FERRI, 2009).

Diversos estudos apontam para a relação de uma dieta rica em colesterol e gorduras em geral com o aumento da fração LDL e diminuição da fração HDL (KIM 2012). A quantidade e o tipo de gordura alimentar exercem influência direta sobre a concentração de lipídeos e de lipoproteínas plasmáticas, bem como sua associação a processos inflamatórios (LOTTENBERG, 2009). Em um estudo que analisou fatores que influenciam a variação na atividade da PON1 foi observado à dieta rica em colesterol foi responsável por uma variação de 5,45% na atividade da enzima. A idade também apresentou relação significativa com a atividade da PON1, sendo responsável por 3,78% da variação (KIM, 2012).

Com base nas evidências apresentadas o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos da dieta hiperlipídica e hipercolesterolêmica no perfil lipídico e atividade da PON1 em camundongos fêmeas de acordo com a faixa etária, visando observar possíveis interações entre consumo de gorduras e idade.

2. METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da UFPel sob o número 9106.

Foram utilizados camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6, sendo 9 fêmeas jovens com 4 meses de idade e 13 fêmeas velhas com 13-14 meses de idade. As fêmeas foram divididas em quatro grupos: grupo 1 formado por 5 fêmeas jovens com dieta normal (grupo controle); grupo 2 por 4 fêmeas jovens com dieta hiperlipidêmica; grupo 3 por 6 fêmeas velhas com dieta normal (grupo controle); e o grupo 4 por 7 fêmeas velhas com dieta hiperlipidêmica. Os animais foram fornecidos pelo Biotério da UFPel e durante o experimento foram mantidos

no Laboratório de Nutrição Experimental em estantes ventiladas, sob temperatura (22 ± 2 °C) e umidade (40 – 60%) controladas.

As dietas foram elaboradas segundo a AIN-93 (REEVES, 1993). Para a dieta hiperlipidêmica experimental foi adicionado 120g de banha de porco e 10g colesterol em substituição a 191g de amido de milho comparada a 1kg da ração normal da AIN-93. Os animais passaram por um período de adaptação de 1 semana e então foi iniciada a suplementação com as respectivas dietas de acordo com o grupo experimental. As dietas foram fornecidas por 55 dias.

Ao final do período os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas, durante a noite e as fêmeas foram anestesiadas, eutanaziadas e dissecadas. Foi coletado o soro e os tecidos uterino, ovariano, adiposo e hepático foram armazenados para posterior análise. O sangue foi centrifugado a 4.000 rpm para a extração do soro, o qual foi armazenado a -20°C para análises posteriores.

As amostras de soro foram avaliadas quanto à concentração sérica de colesterol total e colesterol HDL (Labtest), através de colorimetria no espectrofotômetro, seguindo recomendações do fabricante. A análise da atividade sérica da PON1 foi feita pela preparação de um Tampão 20mM Tris/HCL adicionado de fenilacetato, substância esta que servirá como substrato da enzima PON1. A solução tampão foi acrescida das amostras e foi analisada quanto à variação da absorbância a 270nm durante 60seg através do espectrofotômetro.

As análises estatísticas foram realizadas no programa SAS (SAS Institute, Cary, USA) através do procedimento MIXED para testar o efeito da dieta, da idade e interação dieta e idade. Foram considerados significativos valores de $P < 0.05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de ração foi maior ($p < 0,05$) nos animais do grupo controle do que no grupo dieta hiperlipidêmica. Também foi maior o consumo no grupo de fêmeas velhas se comparado ao grupo das novas ($p < 0,05$; TABELA 1). Em relação ao peso corporal, as fêmeas do grupo dieta hiperlipidêmica alcançaram maior peso com relação ao grupo controle e as fêmeas mais velhas tiveram maior ganho de peso ($p < 0,05$; TABELA 1).

A concentração de colesterol total foi maior no grupo dieta hiperlipidêmica e só não apresentou relação com a idade ($p > 0,05$). Já a fração HDL foi maior nas fêmeas velhas e no grupo dieta hiperlipidêmica ($p < 0,05$; TABELA 1). E por fim, a atividade da PON1 foi menor no grupo dieta hiperlipidêmica, sendo maior nas fêmeas velhas ($p < 0,05$; TABELA 1).

O consumo maior das fêmeas mais velhas pode ser explicado por estas apresentarem maior peso corporal inicial e se manter elevado durante o experimento. De maneira geral as fêmeas regularam o seu consumo de acordo com as suas necessidades, ao dividirmos a média de consumo pela média de peso dos grupos obtemos um percentual de 13,3% de ingestão/peso para as jovens e 12% para as velhas, ou seja, o consumo da ração foi semelhante entre as duas idades, porém as mais velhas tiveram um ganho de peso maior.

Quanto ao menor consumo da ração hiperlipidêmica deve-se ao fato de esta ser 26% mais calórica em comparação à ração normal e apresentar em sua composição elevado teor de lipídeos (ácidos graxos saturados e colesterol) o que acarretaria em maior saciedade mesmo em pequenas quantidades da ração, por essa ser de elevada densidade energética. O peso aumentado no grupo com a ração hiperlipidêmica se deu ao mesmo fato. Já a relação com a idade também

pode ser pela proporcionalidade de peso com o aumento da idade, as fêmeas mais velhas em geral possuíam maior peso corporal, assim consumiam mais.

A relação entre a idade e as modificações no perfil lipídico como o aumento do HDL, ainda não estão totalmente elucidadas, porém em um estudo que acompanhou o perfil lipídico foi observado o aumento do HDL, diminuição do colesterol total e LDL com o avançar da idade, sendo sugerido como sendo um processo natural de envelhecimento, mas a dimensão desta alteração não está clara. (ABBOTT, 1997).

De acordo com a literatura revisada, esperava-se que a atividade da PON1 fosse diminuída na presença de uma dieta rica em ácidos graxos e colesterol, a média maior para as fêmeas velhas é proporcional ao teor da fração HDL, já que sabemos que a grande parte da enzima encontra-se nessa fração. Quanto a relação com a idade, KIM et al. (2012) já havia associado que a idade pode influenciar na atividade da enzima, assim como a dieta. Esperava-se que com o avançar da idade os níveis de PON1 reduzissem, porém no estudo foi observado o contrário, ressaltando que é importante mais pesquisas relacionadas ao assunto.

Tabela 1. Média + EPM do consumo, peso, colesterol total, colesterol HDL e PON1 nos camundongos jovens e velhos alimentados com dieta hiperlipídica ou controle

	Jovens		Velhas		P		
	Controle	Hiperlipídica	Controle	Hiperlipídica	Dieta	Idade	Interação
Consumo	3,4 ± 0,2	2,6 ± 0,2	4,5 ± 0,2	3,3 ± 0,2	<.0001	<.0001	0,18
Peso	21,1 ± 0,4	23,3 ± 0,4	30,1 ± 0,3	35,1 ± 0,3	<.0001	<.0001	<.0001
Col. Total	179,3 ± 20,6	262,8 ± 23	175,7 ± 18,8	225,3 ± 17,4	0,0038	0,3197	0,4090
Col. HDL	58 ± 4,5	60,5 ± 5,0	72,2 ± 4,1	81,7 ± 3,8	0,0676	0,008	0,4358
PON1	98,9 ± 8,6	72,9 ± 9,6	129,7 ± 7,9	83,4 ± 7,3	0,003	0,0225	0,2435

4. CONCLUSÕES

As fêmeas dos dois grupos de dieta e independentemente da idade, regularam o seu consumo de acordo com suas necessidades energéticas e o ganho de peso foi maior nas fêmeas velhas. A dieta rica em lipídeos do tipo ácidos graxos saturados e colesterol induziu uma redução nos níveis séricos da enzima PON1, sendo que as fêmeas velhas já tinham maiores níveis da enzima.

Sendo assim, a dieta rica em ácidos graxos saturados e colesterol levam a redução da enzima PON1 e por isso é um fator de risco para o endotélio vascular e conseqüentemente para a incidência de doenças cardiovasculares, já que ela é responsável pela proteção contra a oxidação do LDL.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, R. D; SHARP, D. S; BURCHFIEL, C. M; CURB, J. D; RODRIGUEZ, B. L; HAKIM, A. A; YANO K. Cross-Sectional and Longitudinal Changes in Total and High-Density-Lipoprotein Cholesterol Levels over 20-year Period in Elderly Men: The Honolulu Heart Program. **Elsevier Science**, New York, 1997.
- FERNANDES, R. A; CHRISTOFARO, D. G. D; CASONATTO, J; CODOGNO, J. S; RODRIGUES, E; CARDOSO, M; KAWAGUTI, S; ZANESCO, A. Prevalência de Dislipidemia em Indivíduos Fisicamente Ativos durante a Infância, Adolescência e Idade Adulta. Londrina PR, Brasil 2011.
- FERRI, L. A. F. Polimorfismos no gene paraoxanase 1 como preditores de eventos cardiovasculares em pacientes com doença coronária estável. São Paulo 2009.
- KIM, D. S; BURT, A. A; RANCHALIS, J. E; RICHTER, R. J; MARSHALL, J. K, NAKAYAMA, K. S; JARVIK, E. R; EINTRACHT, J. F; ROSENTHAL, E. A; FURLONG, C. E; JARVIK, G. P. Dietary cholesterol increases paraoxanase 1 enzyme activity. National Institutes of health Grant, JLR Papers in Press, 2012.
- LESSA, I; CONCEIÇÃO, J. L; SOUZA, M. L; OLIVEIRA, V; CARNEIRO, J; MELO, J; PINHEIRO, J; MEIRELES, F; NETTO, J; REIS, F; GOUVÊA, R; COUTO, M; SOUZA, S; OLIVEIRA, M. R. Prevalência de Dislipidemias em Adultos da Demanda Laboratorial de Salvador, Brasil. **Arquivos Brasileiros Cardiologia**, volume 69 (nº 6), 395-400, 1997.
- LLOYD-JONES, D. M; WILSON, P. W, LARSON, M. G; BEISER, A; LEIP E. P; D'AGOSTINO R. B; LEVY D. Framingham risk score and prediction of lifetime risk for coronary heart disease. **Am J Cardiol**. 2004.
- LOTTENBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e doença cardiovascular. Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo. 2009;53/5.
- REEVES, P. G; NIELSEN, F. H; JR, G. C; F. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **American Institute of Nutrition**, 1993.
- SANTOS R. D;GAGLIARDI A.C. M;XAVIER H. T;MAGNONI C. D;CASSANI R;LOTTENBERG A.M. et al. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. Arquivo Brasileiro de Cardiologia. 2013;100(1Supl.3):1-40.
- SMITH S. C; JR, A. J; BLAIR S. N; BONOW R. O; BRASS L. M; FONAROW G. C; GRUNDY S. M; HIRATZKA, L; JONES D; KRUNHOLZ H. M; MOSCA L; PEARSON T; PFEFFER M. A; TAUBERT K. A. AHA/ACC guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update endorsed by the ational Heart, Lung, and Blood Institute. **J Am Coll Cardiol**. 2006; 47(10):2130-9.
- UNAL B; CRITCHLEY, J. A; CAPEWELL S. Explaining the decline in coronary heart disease mortality in England and Wales between 1981 and 2000. *Circulation*. 2004; 109(9):1101-7.