ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA) REDUZ LIPÍDEO EM MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS SUBMETIDOS A TREINAMENTO DE NATAÇÃO.

Celene Fernandes Bernardes
Arthur Fernandes Gáspari
Juliana de Paulo
Maria Inês P. Rodrigues
Carolina Canova Paviotti
Maria José Costa Sampaio Moura

Resumo

A suplementação com ácido linoleico conjugado (CLA) tem sido relacionada com a perda de peso corporal, diminuição da massa gorda, efeitos no metabolismo de lipídeos e na taxa metabólica de repouso. O objetivo do trabalho foi avaliar a concentração de lipídeos, proteínas e glicogênio em tecidos de ratos Wistar mantidos com dieta suplementada com CLA e submetidos ao treinamento de natação. Os resultados indicaram redução de lipídeos e aumento de glicogênio no músculo esquelético. Não foram verificadas alterações nos outros parâmetros analisados em tecidos hepático, cardíaco e muscular.

Palavras-Chave

Ácido linoleico; Composição corporal; Lipídeo

ACID LINOLEICO CONJUGATED (CLA) REDUCES LIPÍDEO IN SKELETAL MUSCLE OF MICE SUBMITTED TO TRAINING OF SWIMMING

Celene Fernandes Bernardes
Arthur Fernandes Gáspari
Juliana de Paulo
Maria Inês P. Rodrigues
Carolina Canova Paviotti
Maria José Costa Sampaio Moura

Abstract

The supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) has been related with the body weight loss, the fat mass reduction, effects on the metabolism of lipids and resting metabolic rate. The aim of this research was to evaluate the concentration of lipids, protein and glycogen in tissues of Wistar rats maintained on a diet supplemented with CLA and submitted to a swimming training. The results indicated reduction of lipids and increase of the skeletal muscle glycogen. No changes were observed in any other parameters examined in liver tissue, heart and muscle.

Key-Words

Conjugated linoleic acid; Body composition; Lipids

INTRODUÇÃO

Estudos têm demonstrado que o ácido linoleico conjugado (CLA) reduz a gordura corporal em animais (PARK et al., 1997, DELANY et al., 1999, MINER et al., 2001, SISK et al., 2001, TAKAHASHI et al., 2002, BOTELHO et al., 2005, MOURÃO et al., 2005) e em humanos sedentários (BLANKSON et al., 2000, RISÉRUS et al., 2001, KAMPHUIS et al., 2003) ou que praticam atividade física complementar (THOM, et al., 2001, PINKOSKI et al., 2006). A diminuição da gordura corporal em função de ingestão de CLA pode estar relacionada com alterações no metabolismo energético de tecido adiposo e de músculos esqueléticos (TAKAHASHI et al., 2002) e com aumento na taxa metabólica de repouso (KAMPHUIS et al., 2003). Diferentes mecanismos têm sido propostos para explicar a diminuição da gordura corporal em decorrência da suplementação com CLA, incluindo apoptose em tecido adiposo (MINER et al., 2001), aumento da atividade das enzimas lipase e carnitina transferase, com conseqüente aumento de lipólise em tecido adiposo e de oxidação de ácidos graxos em músculos e tecido adiposo (MOURÃO et al., 2005) e alteração na expressão gênica de proteínas reguladoras do metabolismo energético em tecido adiposo e músculo esquelético (TAKAHASHI et al., 2002). Risérus et al. (2001) verificaram que a suplementação alimentar com CLA comercial, contendo a mistura de isômeros, em homens obesos com síndrome metabólica acarretava diminuição da gordura abdominal; entretanto, em 2002 os mesmos autores verificaram que o isômero *10trans,12cis* de CLA acarretava aumento de resistência à insulina e glicemia e redução de HDL colesterol. Zulet et al. (2005) e Funck et al. (2006) relataram os inúmeros efeitos benéficos que a suplementação com CLA pode acarretar em estados patofisiológicos distintos, como câncer, aterosclerose, hipertensão, diabetes e na composição da massa corporal, sugerindo que o efeito anticarcinogênico e antiaterosclerótico do CLA está relacionado com propriedades antiinflamatórias. Mourão et al., (2005) e Funck et al. (2006) entretanto, ressaltam a importância da complementação de pesquisas com CLA antes de indicação da suplementação pela população, considerando que efeitos indesejáveis relacionados à resistência à insulina, glicemia e perfil plasmático de lipídeos, com diminuição da concentração da lipoproteína HDL, têm sido relatados nos estudos com humanos e animais.

O ácido linoleico conjugado (CLA) corresponde a um conjunto de isômeros do ácido linoleico (ácido cis-9, cis-12 octadecadienóico = 18:2), que é um ácido graxo com dezoito carbonos e duas duplas ligações, uma entre os carbonos 9 e 10 e a outra, entre os carbonos 12 e 13. Os isômeros do ácido linoleico, caracterizados como CLA, apresentam as duplas ligações conjugadas, não separadas por um grupo

metilênico. Nove isômeros são encontrados em alimentos naturais, como na gordura de ruminantes, na carne de gado e nos laticíneos (MOURÃO et al. ., 2005, FUNCK et al. ., 2006). Dois dos isômeros do CLA apresentam atividade biológica comprovada (FUNCK et al. ., 2006). O primeiro isômero (9c,11t), associado com propriedades anticarcinogênicas e encontrado predominante nos alimentos de origem animal, apresenta uma dupla ligação na posição *cis* entre os carbonos 9 e 10 e uma outra dupla ligação, na posição *trans*, entre os carbonos 11 e 12. O segundo isômero (10t,12c), associado com efeitos no metabolismo de lipídeos e composição corpórea, apresenta uma dupla ligação na posição *trans* entre os carbonos 10 e 11 e a segunda dupla, na posição *cis*, entre os carbonos 12 e 13.

Os estudos com CLA têm sido realizados com uma mistura dos isômeros, sintetizados à partir do ácido linoleico obtido de óleos vegetais e que contém predominantemente os isômeros CLA 9c11t e 10t,12c. Devido ao emprego da mistura de isômeros do CLA e das diferentes metodologias empregadas considerando a dose e a duração da suplementação, os estudos têm apresentado resultados distintos e de difícil interpretação quanto aos efeitos e mecanismos de ação dos isômeros específicos.

OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da dieta padrão com CLA sobre a composição de lipídeos, proteínas e glicogênio em tecidos hepático, cardíaco e músculo esquelético de ratos Wistar saudáveis submetidos ao treinamento de natação.

METODOLOGIA

Grupos experimentais: Ratos Wistar machos com 2 meses de idade no início do período experimental foram divididos em dois grupos (n = 10/grupo): grupo controle e grupo CLA, e mantidos em gaiolas com dois animais, em sala climatizada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$).

Suplementação: A suplementação alimentar dos animais foi realizada através de entubação orogástrica, cinco vezes por semana, num período total de 5 semanas. Os animais do grupo controle receberam 0,2 mL de solvente Tween 80% e os do grupo CLA, receberam 0,2 mL de CLA diluído 1:10 em Tween 80%. O CLA utilizado foi obtido comercialmente da marca "Integralmédica Suplementos Nutricionais" e corresponde a uma mistura dos isômeros do ácido linoleico em óleo de *Hellianthus*. A dose corresponde proporcionalmente ao recomendado no frasco e indicado para consumo humano.

Treinamento: Os animais foram submetidos, individualmente, à natação durante 30 minutos, 3 vezes por semana, em tanque 50cm x 50cm x 5cm, contendo água aquecida a 30°C.

Amostras: Os tecidos hepático, cardíaco e músculo esquelético gastrocnêmio foram coletados dos animais sacrificados com halotano. As amostras foram liofilizadas, moídas e armazenadas a -25°C até o momento das dosagens.

Dosagens: A análise de glicogênio foi realizada pelo método de fenol sulfúrico (LO et al. , 1970), a concentração de lipídeos foi determinada através da técnica descrita por FRINGS et al. (1972), com adaptações para tecidos e a concentração de proteínas foi verificada através do método de Kjeldahl (ASSOCIATION, 1995).

Análises estatísticas: Os dados foram submetidos à análise comparativa das médias entre os grupos seguida de teste *t*. Valores de *p* menores do que 0,05 foram indicativos de significância estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicaram que a suplementação com CLA não altera o peso corporal dos animais (Figura 1). No início do estudo, os animais do grupo controle apresentaram o peso médio de 302±8g e os do grupo suplementados com CLA, de 286±17g. Após as cinco semanas de experimentação, os animais evoluíram uma média de 22% no peso corporal, alcançando 338±5g no grupo controle e 348±4g no grupo CLA, estatisticamente sem diferença entre os grupos ($p>0,05$). Esses resultados estão compatíveis com os descritos por Sisk et al. (2001), que verificaram que uma dieta suplementada com 0,5% de CLA não afetava a ingestão alimentar nem o crescimento de ratos obesos.

Figura 1 - Evolução do peso corporal (g, $p>0,05$) dos animais do grupo controle (n) e suplementado com CLA (■) durante semanas.

A concentração de proteínas totais (Figura 2), analisada nos tecidos hepático, cardíaco e músculo esquelético, não aumentou significativamente ($p>0,05$) no grupo CLA em relação ao grupo controle. O aumento de massa magra total foi descrito por Park et al. (1997) e por DeLany et al. (1999) em ratos com dieta suplementada com 0,5 e 1,0% de CLA. Pinkoski et al. (2006) também relatou aumento de massa de tecido magro em humanos com dieta suplementada com CLA e com treinamento de resistência. Os experimentos foram realizados em condições diferentes das utilizadas neste trabalho e as técnicas de análise de massa magra não foram específicas para proteína tecidual.

FIGURA 2 - Concentração de proteínas (mg/100 mg tecido seco, $p>0,05$) dos animais do grupo controle (n) e suplementado com CLA (■), em tecido cardíaco (C), fígado (F) e músculo esquelético (ME).

As análises de glicogênio (Figura 3) em coração (C) e fígado (F) também não indicaram diferenças significativas entre os grupos controle e CLA. Com relação às análises realizadas em músculo esquelético gastrocnêmio (ME), verificou-se aumento significativo de glicogênio no grupo CLA, que apresentou $3,04\pm0,17$ mg/100 mg de tecido, enquanto o grupo controle apresentou uma quantidade aproximadamente 29 % menor ($2,16\pm0,27$ mg/100 mg de tecido). Isto indica uma maior disponibilidade de glicogênio como fonte de energia pelo grupo suplementado com CLA, confirmando a hipótese de alteração no metabolismo energético de músculo esquelético de ratos em função da ingestão de CLA (TAKAHASHI et al. ., 2002).

FIGURA 3 - Concentração de glicogênio (mg/100 mg tecido seco) dos animais do grupo controle (□) e suplementado com CLA (■), em tecido cardíaco (C), fígado (F) e músculo esquelético (ME). *diferença significativa entre os grupos $p < 0,05$.

As análises de lipídeos (Figura 4) indicaram uma diminuição da ordem de 38% no músculo esquelético extraído dos animais do grupo suplementado com CLA em relação ao grupo controle. O músculo esquelético do grupo controle apresentou $12,82 \pm 2,07$ mg de lipídeo por 100 mg de tecido, enquanto que o grupo suplementado com CLA apresentou $7,92 \pm 0,98$ mg/100 mg de tecido.

FIGURA 4 - Concentração de lipídeos (mg/100 mg tecido seco) dos animais do grupo controle (□) e suplementado com CLA (■), em tecido cardíaco (C), fígado (F) e músculo esquelético (ME). *diferença significativa entre os grupos $p < 0,05$.

Diferentes autores verificaram redução da gordura corporal em função da suplementação com CLA, variando da ordem de 18 a 60% (PARK et al. ., 1997, DELANY et al. ., 1999, BOTELHO et al., 2005, MOURÃO et al., 2005). Os autores verificaram a gordura corporal, em diferentes condições experimentais, analisando todos os tecidos em conjunto, e após os animais terem recebido suplementação com diferentes concentrações de CLA e por períodos distintos. Nossos resultados indicam que a diminuição específica de gordura corporal pode estar relacionada parcialmente com a diminuição da concentração de lipídeos no tecido muscular.

CONCLUSÕES

Os resultados descritos neste trabalho confirmam a relação da suplementação com CLA e diminuição da gordura corporal. A suplementação de dieta padrão com CLA acarretou diminuição da gordura em músculo esquelético de ratos submetidos ao treinamento de natação. Os resultados também indicaram aumento de glicogênio no músculo esquelético, sem alterações de proteínas. Os outros tecidos analisados não apresentaram diferenças significativas em decorrência da suplementação com CLA.

REFERENCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of AOAC*. 16th ed. Washington: AOAC International, 1995. v.1.
- BLANKSON, H., et al. *Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans*. *J Nutr*, v. 130, n. 12, p. 2943-2948, 2000.
- BOTELHO, A. P., et al. *A suplementação com ácido linoleico conjugado reduziu a gordura corporal em ratos Wistar*. *Rev Nutr*, v. 18, n. 4, p. 561-5, 2005.
- DeLANY, J. P., et al. *Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 276, n. 4, p. 172-179, 1999.
- FRINGS C.S.; et al. *Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phosph-vanilin reaction*. *Clin. Chem.* v. 18, p. 673, 1972.
- FUNCK, L. G., BARRERA-ARELLANO, D., BLOCK, J. M. *Ácido linoleico conjugado (CLA) e sua relação com a doença cardiovascular e os fatores de risco associados*. *ALAN*, v. 56, n. 2, p.1-17, 2006.
- KAMPHUIS, M. M., et al. *The effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on body weight regain, body composition, and resting metabolic rate in overweight subjects*. *Int J Obes Relat Metab Disord*, v. 27, n. 7, p. 840-847, 2003.

- LO, S., RUSSEL, J. C., TAYLOR, A. W. *Determination of glycogen in small tissue samples. J Appl Physiol*, v. 28, n. 2, p. 234-236, 1970.
- MINER, J. L., et al. *Conjugated linoleic acid (CLA), body fat, and apoptosis. Obes Res*, v. 9, n. 2, p. 129-34, 2001.
- MOURÃO, D. M., et al. *Ácido linoleico conjugado e perda de peso. Rev Nutr*, v. 18, n. 3, p. 391-9, 2005.
- PARK, Y., et al. *Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. Biomedical and Life Sciences*, v. 32, n. 8, p. 853-8, 1997.
- PINKOSKI, C., et al. The effects of conjugated linoleic acid supplementation during resistance training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 38, n. 2, p. 339-48, 2006.
- RISÉRUS, U., et al. *Treatment with dietary trans 10cis 12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. Diabetes Care*, v. 25, n. 9, p. 1516-1521, 2002.
- RISÉRUS, U., BERGLUND, L., VESSBY, B. Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomized controlled trial. *Int J Obes Relat Metab Disord*, v. 25, n. 8, p. 1129-1135, 2001.
- SISK, M. B., et al. *Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese Zucker rats. J. Nutr*, v. 131, n. 6, p. 1668-1674, 2001.
- TAKAHASHI, Y., et al. *Dietary conjugated linoleic acid reduces body fat mass and effects gene expression of proteins regulating metabolism in mice. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, v. 133, n. 3, p. 395-404, 2002.
- THOM, E., WADSTEIN, J., GUDMUNDSEN, O. *Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. J. Int Med Res*, v. 29, n. 5, p. 392-396, 2001.
- ZULET, M. A., et al. *Inflammation and conjugated linoleic acid: mechanisms of action and implications for human health. J Physiol Biochem*, v. 61, n. 3, p. 483-494, 2005.

Celene Fernandes Bernardes
Faculdade de Química Tecnológica - PUC-Campinas

Arthur Fernandes Gáspari
Faculdade de Educação Física – UNICAMP

Juliana de Paulo
Faculdade de Ciências Biológicas - CCV - PUC-Campinas

Maria Inês P. Rodrigues
Faculdade de Ciências Biológicas - CCV - PUC-Campinas

Carolina Canova Paviotti
Faculdade de Ciências Biológicas - CCV - PUC-Campinas

Maria José Costa Sampaio Moura
Faculdade de Ciências Biológicas - CCV - PUC-Campinas

Referência do artigo:

ABNT

BERNARDES, C. F., et. al. Ácido linoléico conjugado (cla) reduz lipídeoem músculo esquelético de ratos submetidos a treinamento de natação. Conexões, v. 6, p. 155-163, 2008.

APA

Bernardes, C. F., Gáspari, A. F., Paulo, J., Rodrigues, M. I. P., Paviotti, C. C., & Moura, M. J. C. S. (2008) Ácido linoléico conjugado (cla) reduz lipídeoem músculo esquelético de ratos submetidos a treinamento de natação, 6, 155-163.

VANCOUVER

Bernardes CF, Gáspari AF, Paulo J, Rodrigues MIP, Paviotti CC, Moura MJCS. Ácido linoléico conjugado (cla) reduz lipídeoem músculo esquelético de ratos submetidos a treinamento de natação. Conexões, 2008; 6: 155-163.