

EFEITO DA VITAMINA C SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDIOS EM FÍGADO E MÚSCULO DE CAMUNDONGOS EXPOSTOS A DIETA DE CAFETERIA

MÔNICA SCHIAVON DA COSTA¹; GIOVANA RIBEIRO PEGORARO²; BETINA FERNANDA DAMBRÓS³; THAIANE KUBIAKI⁴; CAROLINE BITENCOURT⁵; SANDRA COSTA VALLE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – monica_schiavon@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Pelotas – giovana.pegoraro@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – betinadambros@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – thaiane.michelsen@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – carol.r.bitencourt@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – sandracostavalle@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A vitamina C (Vit.C) é uma molécula hidrossolúvel, com alta capacidade de doar e/ou receber elétrons. Alguns mamíferos conseguem sintetizá-la no fígado a partir da glicose. Porém, seres humanos não expressam a enzima que catalisa a fase final da via de síntese da Vit.C, a *gulonolactona oxidase-GO*, tornando-os dependentes da ingestão alimentar para suprir suas necessidades diárias (STIPANUK, 2012). (COZZOLINO, 2012). Inúmeras evidências indicam que a Vit.C previne de forma eficaz a peroxidação lipídica, protegendo de dano oxidativo as membranas celulares e as lipoproteínas circulantes no sangue (COZZOLINO e SILVA, 2012). Ao mesmo tempo, estudos recentes ampliam as ações da vitamina sugerindo sua associação ao controle do gasto energético, da massa adiposa e ao equilíbrio metabólico.

CAMPIÓN et al.(2006) verificaram que a suplementação de Vit.C reduziu o peso corporal, a gordura total e subcutânea em ratos *Wistar* induzidos a obesidade. GARCIA- DIAZ et al. (2008) constataram que o tratamento com Vit.C alterou a capacidade lipolítica e resultou em menor ganho de peso corporal em ratos obesos. Dentre os mecanismos implicados sobre esses efeitos estão o aumento da hidroxilação e síntese de carnitina, proteína responsável pelo transporte dos ácidos graxos para o interior da mitocôndria, aumentando o fluxo de substrato para β -oxidação.

A dieta de cafeteria ou dieta ocidentalizada é um modelo experimental de indução à obesidade, caracterizado pela ingestão de alimentos de alta densidade energética. Como resultado ocorre ganho de peso acelerado, aumento da gordura abdominal e, predisposição para parâmetros pré-diabéticos em modelos experimentais (CAMPIÓN et al., 2006). Pesquisas experimentais tem indicado uma menor atividade mitocondrial em animais induzidos a obesidade com dietas hipercalóricas. McGarry (2002) reúne evidências sobre a presença de um acúmulo atípico de gordura entre as fibras musculares frente a obesidade e destaca o impacto dessa alteração no decréscimo da oxidação lipídica muscular.

Nesse contexto a hipótese deste estudo consiste que o tratamento com Vit.C, contíguo a indução da obesidade, seria capaz de reduzir a deposição de gordura em fígado e músculo de camundongos em um modelo experimental de dieta de cafeteria. Assim, o objetivo foi analisar o efeito da Vit. C sobre as concentrações de triglicerídeos e colesterol hepático e muscular de camundongos C57BL/6 alimentados com dieta normocalórica ou dieta de cafeteria por nove semanas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O ensaio biológico foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPEL (código cadastro CEEA-9827). Foram utilizados 22 camundongos machos da linhagem C57BL/6, com 2 meses de idade, obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: Dieta normocalórica (n=5, ração padrão AIN3 + água *ad libitum*); Dieta normocalórica + Vit.C (n=5, ração padrão AIN3 + água *ad libitum* + Vitamina C (9,0 mg/kg/Peso corporal)); Dieta de cafeteria (n=6, ração padrão AIN3 + salsicha, bacon, salgadinho, leite condensado, biscoito recheado e chocolate + água *ad libitum*) e Dieta de cafeteria + Vit.C (n=6, ração padrão AIN3 + salsicha, bacon, salgadinho, leite condensado, biscoito recheado e chocolate + água *ad libitum* + vitamina C (9,0mg/kg/PC)). Foi utilizada Vit.C em pó, grau de pureza farmacêutica (*Extractus* Farmácia de Manipulação, Pelotas, RS-Brasil).

O experimento foi conduzido num total de 65 dias, sendo os 5 primeiros destinados à adaptação dos animais ao ambiente e ao consumo de dieta e líquidos. O ensaio biológico foi desenvolvido no Laboratório de Ensaio Biológicos da Faculdade de Nutrição da UFPEL, onde os camundongos permaneceram em temperatura e umidade relativa entre 22-24°C e 65-75%, respectivamente, sob ciclo claro/escuro de 12 horas. A ingestão alimentar foi monitorada diariamente, e a diferença em gramas/mL entre a quantidade ofertada e a quantidade restante no dia seguinte, registrada em planilhas de controle. A determinação do ganho e/ou perda de peso foi obtida através da pesagem semanal dos animais, em balança eletrônica.

A eutanásia ocorreu após o 65º dia de tratamento. Previamente, os camundongos foram deixados em jejum de 12 horas (ração e água), e em seguida submetidos ao procedimento de decapitação conforme a Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária nº 714 de junho de 2002, seguindo os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 2004). O sangue e os tecidos foram coletados no momento da decapitação. Foram excisados cirurgicamente e imediatamente pesados o fígado, o músculo sóleo, os rins e o tecido adiposo epididimal. Após a obtenção do soro, utilizando-se kits comerciais, com base nas recomendações dos fabricantes, realizou-se a quantificação colorimétrica de albumina (Doles®, GO-Brasil), glicose (Doles®, GO-Brasil), triacilgliceróis-TG (Vida Bidiagnóstica®, MG-Brasil) e colesterol total-CT (Vida Bidiagnóstica®, MG-Brasil).

As amostras de fígado e músculo sóleo foram pesadas e homogeneizadas com solução salina na proporção de 1:5 (w:v). O teor de TG e colesterol do homogenato foi quantificado por colorimetria com kit comercial (Doles®, GO-Brasil) e os resultados obtidos em mg/100mg de tecido úmido.

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (\pm DP). A análise ANOVA de duas vias foi realizada para testar o efeito da Vit.C, da dieta e suas interações. Quando a interação foi significativa o teste t foi realizado para comparação entre grupos. O nível de significância adotado foi de 5%. Para as análises foi utilizado o Software GraphPad Prism 5.

3. RESULTADOS DISCUSSÃO

Os camundongos alimentados com dieta de cafeteria mostraram maior consumo energético diário e peso corporal comparados (vs) aos dieta

normocalórica ($p < 0,05$; Tab.1). A Vit.C associou-se a redução do consumo energético e peso corporal apenas nos animais alimentados com dieta normocalórica ($p < 0,05$; Tab.1). Observou-se interação entre dieta e Vit.C sobre o consumo energético e o peso corporal ($p < 0,05$; Tab.1). O consumo diário de água não mostrou alteração significativa ($p > 0,05$; Tab.1).

A gordura epididimal foi maior nos grupos alimentados com dieta de cafeteria vs grupos dieta normocalórica ($p < 0,05$; Tab.1). Por outro lado, os animais de ambas as dietas quando tratados com Vit.C apresentaram menor quantidade de gordura epididimal ($p < 0,05$; Tab.1). Além disso, foi observada interação entre dieta e a Vit.C sobre a gordura ($p < 0,05$; Tab.1). Esse efeito pode ser atribuído ao papel da Vit.C em elevar a β -oxidação conforme verificado em outros estudos.

As médias de glicose sérica foram superiores nos grupos dieta de cafeteria vs dieta normocalórica. Contudo, a glicose foi menor no grupo alimentado com ração padrão e tratado com Vit.C vs o controle ($p < 0,05$; Tab.1). Os TG e CT séricos ficaram mais elevados nos camundongos dieta de cafeteria comparados aos dieta normocalórica ($p < 0,05$; Tab.1). O CT e o TG foram menores no grupo dieta normocalórica que recebeu Vit.C vs o controle ($p < 0,05$; Tab.1). Ao mesmo tempo o tratamento com Vit.C reduziu o TG sérico dos animais alimentados com dieta de cafeteria ($p < 0,05$; Tab.1). Estudos sugerem que a Vit.C ativaria a enzima 7- α -hidroxilase, envolvida na conversão do colesterol em ácidos biliares, ocasionando redução sérica de colesterol (OWU et al., 2006; TAKASHASHI et al., 2014).

TABELA 1: Características de consumo, de peso e avaliação bioquímica sérica e tecidual de camundongos C57BL/6 alimentados com dieta normo (NORM) ou hipercalórica (CAF) tratados como controle ou com vitamina C por nove semanas. (N= 5 a 6).

	NORM		CAF		P		
	CONTROL	VIT.C	CONTROL	VIT.C	Dieta	VIT.C	Interação
	Média (±DP)				Valor		
Consumo							
Energético (kcal/dia)	11,81 (2,11)	8,73 (1,03)* [‡]	114,86 (3,42)*	114,34 (2,87)*	<0,001	0,012	0,014
Líquidos (mL/dia)	5,73 (0,93)	4,00 (1,41)	4,67 (1,15)	3,28 (1,74)	0,273	0,067	0,830
Peso Corporal Final (g)	28,63(1,27)	19,87(2,62)* [‡]	42,50 (2,98)*	43,97 (7,69)*	<0,001	0,012	0,001
Gordura Epididimal (g)	0,18 (0,08)	0,09 (0,00)*	2,14 (0,27)*	1,28 (0,68)* ^{**}	<0,001	0,005	0,046
Avaliação Bioquímica							
<u>Sérica</u>							
Albumina (g/dL)	1,44 (0,31)	0,64 (0,34)* [‡]	1,23 (0,11)	1,37 (0,32)	0,178	0,002	0,012
Glicose (mg/dL)	70,97(21,17)	40,18 (21,62)* [‡]	178,54(34,59)*	169,6(69,78)*	< 0,001	0,438	0,784
CT (mg/dL)	84,86 (22,74)	46,57 (18,90)* [‡]	151,7 (20,12)*	154,3 (16,75)*	< 0,001	0,080	0,033
TG (mg/dL)	58,30 (13,87)	34,98 (10,72)* [‡]	127,4 (26,10)*	99,24 (15,43)* ^{**}	< 0,001	0,004	0,847
<u>Tecidual</u>							
<u>Fígado</u>							
TG (mg/100mg ⁻¹)	2,82 (0,74)	1,49 (0,50)* [‡]	4,51 (0,37)*	5,97 (0,58)*	<0,001	0,427	0,032
Colesterol(mg/100mg ⁻¹)	0,82 (0,07)	0,67(0,052)* [‡]	1,19(0,31)*	1,71(0,22)*	<0,001	0,110	0,004
<u>Músculo</u>							
TG (mg/100mg ⁻¹)	2,46 (0,81)	0,57 (0,19)* [‡]	5,64 (1,72)*	5,76 (2,28)*	<0,001	0,199	0,148
Colesterol(mg/100mg ⁻¹)	0,55 (0,35)	0,34 (0,13)* [‡]	1,47 (0,31)*	1,81 (0,61)*	<0,001	0,704	0,136

Indicam diferença significativa ($p < 0,05$) test t: *comparado ao grupo dieta normocalórica controle; **comparado a dieta de cafeteria controle
comparado a dieta de cafeteria Vit.C

Quanto as concentrações hepáticas de TG e colesterol, o grupo alimentado com dieta de cafeteria mostrou média superior ao grupo dieta normocalórica. Os lipídeos hepáticos foram inferiores nos animais alimentados com dieta normocalórica que receberam Vit.C vs controle ($p < 0,05$; Tab.1). Efeito similar foi verificado nos lipídeos do músculo sóleo ($p < 0,05$; Tab.1). O efeito da Vit.C sobre os lipídeos hepático e muscular foi muito expressivo em animais mantidos em alimentação padrão e atesta o efeito do tratamento com a vitamina. No entanto, concentrações lipídicas similares frente a exposição a dieta de cafeteria recebendo Vit.C, não eram esperadas e suscitam uma melhor avaliação.

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que a Vit.C reduziu as concentrações de TG e colesterol no fígado e no músculo de camundongos, alimentados com dieta normocalórica. De maneira diferente da esperada, o tratamento com Vit.C associado a dieta de cafeteria não suplantou os efeitos atribuídos a dieta.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPIÓN, J.; et al..Differential gene expression and adiposity reduction induced by ascorbic acid supplementation in a cafeteria model of obesity. **Journal of Physiology and Biochemistry**, n.62, p.71–80, 2006.
- GARCIA-DIAZ, D. F; et al..Ascorbic acid oral treatment modifies lipolytic response and behavioural activity but not glucocorticoid metabolism in cafeteria diet-fed rats. **Acta Physiologica**, n.195, p.449–457, 2009.
- MCGARRI, J. D.; Dysregulation of Fatty Acid Metabolism in the Etiology of Type 2 Diabetes. **Diabetes**. V.51, 2002.
- OWU, D. U.; et al.. Vitamin C improves basal metabolic rate and lipid profile in alloxan induced diabetes mellitus in rats. **Journal of Biosciences**. n.31, v.5, p.575–579, 2006.
- SILVA, V.L.; COZZOLINO, S.M.F. in COZZOLINO, S.M.F. Vitamina C (Ácido Ascórbico) **Biodisponibilidade de Nutrientes**.4^a Ed.Barueri: Editora Manole, 2012, p.409- 427.
- TAKAHASHI, K.; et al.. Ascorbic acid deficiency affects genes for oxidation–reduction and lipid metabolism in livers from SMP30/GNL knockout mice. **Biochimica et Biophysica Acta**. n.1840, p.2289–2298, 2014.