

PERFIL LIPÍDICO DE RATAS WISTAR OVARIECTOMIZADAS NUM MODELO DE RESTRIÇÃO CALÓRICA

EDUARDA COUTO PLÁCIDO¹; CAROLINE RODRIGUES BITTENCOURT²;
SANDRA COSTA VALLE³; PAULO CAVALHEIRO SCHENKEL⁴

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

²Universidade Federal de Pelotas – carol.r.bitencourt@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – sandracostavalle@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – schenkel.paulo@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

De acordo com BORDONE e GUARENTE (2005) a Restrição Calórica (RC), definida como uma redução da ingestão calórica abaixo do *ad libitum*, sem desnutrição, é uma das formas de intervenção nutricional mais amplamente discutidas para se estender o tempo de vida em uma variedade de espécies, inclusive mamíferos. Está associada à redução dos fatores de risco cardiovascular (CV) por reduzir os níveis de triglicerídeos (TG) e elevar os níveis de colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade HDL-c (CRUZEN; COLMAN, 2009).

Além disso, uma importante enzima anti-inflamatória e antiaterogênica associada ao HDL-c, a paroxonase-1 (PON1), tem sido investigada devido a seu papel na redução do risco CV e seu comportamento frente à RC. De acordo com CALABRESI et. al., (2004); DEAKIN e JAMES (2004), a PON1 tem potencial para reduzir a peroxidação do colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e ainda pode conferir uma proteção ao HDL-c no processo de aterosclerose.

Neste mesmo contexto, o estrogênio tem merecido destaque devido à sua ação moduladora sobre os lipídeos e o sistema redox celular. Estudos tem observado que o ele potencializa direta e indiretamente as capacidades antioxidantes, apresentando ação anti-inflamatória e antioxidante (POZZI et. al., 2006; VEGETO et. al., 2003). O objetivo do trabalho foi analisar a influência da restrição calórica moderada no perfil lipídico de ratas ovariectomizadas.

2. METODOLOGIA

O estudo foi desenvolvido nas dependências do Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, em especial no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular.

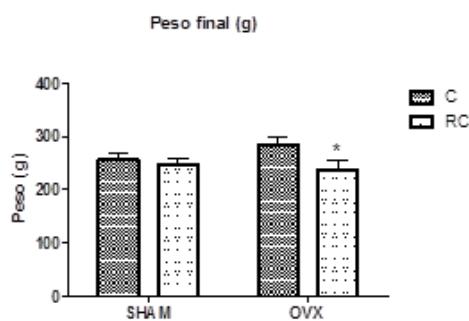
Foram utilizadas 20 ratas *Wistar* (60 dias), divididas em 2 grupos (10 animais cada): Controle (C) e Restrição calórica (RC). As ratas pertencentes aos grupos RC foram submetidas a restrição calórica de 30% do *ad libitum* por 8 semanas. Para isso, passaram por um período de adaptação com restrição calórica progressiva de 10% por semana. Os grupos controle permaneceram recebendo ração comercial e água *ad libitum*. Após quatro semanas em restrição calórica de 30%, as ratas foram submetidas a cirurgia de ovariectomia bilateral (O) ou simulação da mesma (S). Feito isso, os grupos foram subdivididos ($n=5$ animais/grupo): CS, CO, RCS e RCO e permaneceram com a dieta pré estabelecida pelo resto do protocolo. Ao término do período, as ratas foram sacrificadas por decapitação e o soro foi coletado para análise do colesterol total (CT), TG, HDL-c, albumina e da PON1 por kits enzimáticos comerciais. O teor de LDL-c foi determinado pela equação de Fridewald. Para análise estatística foi

utilizado ANOVA de duas vias, seguida do teste t para identificação das diferenças entre os grupos. O nível de significância adotado foi de 5%. Para as análises foi utilizado o Software GraphPad Prism 5.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao peso final, foi encontrada diferença significativa entre o tipo de dieta, sendo que esta diferença foi maior no grupo controle (Figura 1). Em um estudo realizado por TERUYA (2013) com ratas Wistar, com o objetivo de avaliar a restrição calórica materna moderada na gestação e/ou lactação sobre o metabolismo energético da prole, encontrou-se que as fêmeas nascidas de mães restritas na gestação e lactação, o autor encontrou que a restrição calórica não provocou redução no peso corpóreo das fêmeas no início da idade adulta. Resultados semelhantes aos deste estudo foram encontrados em outros estudos com ratos submetidos ao mesmo percentual de RC (RIBEIRO et. al., 2009; RIBEIRO et. al., 2012).

Figura 1: Peso final



A concentração de albumina sérica mostrou-se dentro dos limites adequados a roedores, comprovando que não houve alteração do estado nutricional e foi similar entre os grupos C e RC. Estudos em animais adultos com RC de 30% confirmam estes resultados (RIBEIRO et. al., 2009; RIBEIRO et. al., 2012).

Analizando a influência da RC sobre os lipídeos séricos constatou-se que ela foi capaz de reduzir ($p<0,05$) em 22,8% a concentração sérica de TG, mas não teve efeito significativo em CT, HDL e LDL. No entanto, ao analisarmos o efeito do tratamento cirúrgico, observa-se efeito significativo nos níveis séricos de CT e HDL, as concentrações séricas foram maiores ($p<0,05$) no grupo OVX. Estes dados são apresentados juntamente com os demais parâmetros analisados na tabela 1:

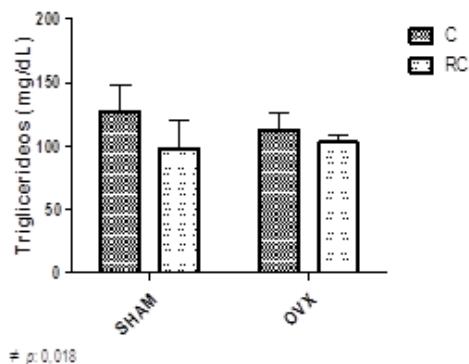
Tabela 1. Análises bioquímicas, atividade da PON1 e caracterização de peso em ratas Wistar (n=20)

	Grupos				Interação	Valor p	
	CS	RS	CO	RO		Dieta	Tratamento
Peso final (g)	257,0±11,3	246,4±12,7	284,0±13,7	237,2±19,0*	0,013	0,001	0,188
Triacilgliceróis (mg/dL)	127,0±20,4	98,0±21,8*	112,7±12,9	103,0±5,6	0,207	0,018	<0,001
Colesterol (mg/dL)	99,3±19,6	114,0±20,0	114,0±17,4**	124,3±12,4	0,148	0,744	0,012
HDL (mg/dL)	44,7±5,5	56,0±14,0	85,0±14,0**	85,5±13,6**	0,365	0,286	<0,001
LDL (mg/dL)	28,5±6,0	42,3±24,8	35,0±9,9	28,0±11,3	0,131	0,628	0,551
PON1 (KU/L)	128,3±31,6	136,0±32,0	144,0±29,1	130,0±22,1	0,41	0,807	0,723
PON1/HDL	3,0±1,1	2,5±0,5	1,7±0,4**	1,6±0,4**	0,582	0,28	0,002
Albumina (mg/dL)	2,1±0,4	2,2±0,4	2,3±0,4	2,1±0,3	0,446	0,744	0,565

Os valores são expressos em média \pm desvio padrão. Nível de significância de 5% teste t. *Indica diferença significativa comparada ao grupo controle ($p<0,05$). ** Indica diferença significativa comparada ao grupo Sham ($p<0,05$).

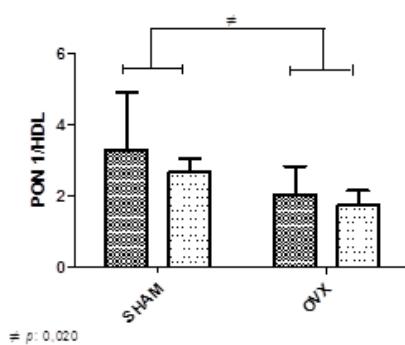
Em relação aos triglicerídeos, observa-se que há uma diferença significativa entre o tipo de dieta, com maiores valores no grupo controle. (Figura 2). Em estudo já citado, TERUYA (2013) encontrou que as fêmeas nascidas de mães restritas na gestação e lactação apresentaram níveis reduzidos de triglicerídeos.

Figura 2: Triglicerídeos



Estudo vem demonstrando que a PON1 parece sensível à RC, estando associada com redução da atividade da enzima (MOYA et. al., 2006; SKRHA, 2009). Entretanto, em nosso estudo observou-se que a RC manteve a atividade da enzima. Não houve diferença significativa entre os grupos, e a RC, independentemente dos níveis de estrogênio, manteve a atividade enzimática. Já em relação à razão PON1/HDL, houve diferença significativa entre o tipo de tratamento, maior no grupo que teve cirurgia fictícia (Figura 3).

Figura 3: Relação PON1/HDL



4. CONCLUSÕES

A restrição calórica de 30% do *ad libitum* por 8 semanas não modificou significativamente o estado nutricional proteico e o perfil lipídico. Além disso, a ovariectomia é capaz de modificar o perfil lipídico. O tipo de tratamento interferiu na razão PON1/HDL sendo que maiores valores foram encontrados no grupo que passou cirurgia fictícia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORDONE, L.; GUARENTE, L. Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.6, n.4, p.298-305, 2005.
- CALABRESI, L.; VILLA, B.; CANAVESI , M.; SIRTORI, C.R.; JAMES, R.W.; BERNINI, F. An omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrate increases plasma highdensity lipoprotein 2 cholesterol and paraoxonase levels in patients with familial combined hyperlipidemia. **Metabolism**, v.53, n.2, p.153-8, 2004.
- CRUZEN C; COLMAN, R. Effects of Caloric Restriction on Cardiovascular Aging in Nonhuman Primates and Humans. **Clinics in Geriatric Medicine**, v.25, n.7, p.33-43, 2009.
- DEAKIN S.P.; JAMES R.W. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. **Clinical Science**, v.107, n.4, p.35-47, 2004.
- MOYA, E.T.; GIANOTTI, M.; LLADO, I.; PROENZA, A.M. Effects of caloric restriction and gender on rat serum paraoxonase 1 activity. **J Nutr Biochem.**, V.17, n.1, p.197-203, 2006.
- POZZI, S.; BENEDUSI, V.; MAGG, I.; VEGETO, E. Estrogen action in neuroprotection and brain inflammation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.10, n.89, p.302-23, 2006.
- RIBEIRO, L.C.; QUINCOZES, S.A.; LEITE, M.C.; ABIB, R.T.; KLEINKAUF, R.J.; BIASIBETTI, R.; ROTTA, L.N.; WOFCHUK, S.T.; PERRY, M.L.S.; GONÇALVES, C.A.; GOTTFRIED, C. Caloric restriction increases hippocampal glutamate uptake and glutamine synthetase activity in Wistar rats. **Neuroscience Res.**, v.64, n.3, p.30-34, 2009.
- RIBEIRO, L.C.; RODRIGUES, L.; QUINCOZES, S.A.; TRAMONTINA, A.C.; BAMBINI, J.V.; ZANOTTO, C.; DIEHL, L.A.; BIASIBETTI, R.; KLEINKAUF, R.J.; DALMAZ, C.; GONÇALVES, C.A.; GOTTFRIED, C. Caloric restriction improves basal redox parameters in hippocampus and cerebral cortex of Wistar rats. **Brain Res.**, v.1472, n.7, p.11-19, 2012.
- SKRHA, J. Effect of caloric restriction on oxidative markers. **Adv Clin Chem.**, v.47, n.2, p.24-42, 2009.
- TERUYA, T.S. **Influência da restrição calórica materna moderada sobre o metabolismo energético em ratos Wistar**. 2013. 52f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu, 2013.
- VEGETO, E.; BELCREDITO, S.; ETTERI, S.; GHISLETTI, S.; BRUSADELLI , A.; MEDA, C. Estrogen receptor- α mediates the brain antiinflammatory activity of estradiol. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.100, n.96, p.14-19, 2003.