

O EFEITO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO SOBRE A MASSA MAGRA E O PESO DE RATOS WISTAR

ANTONELLO, Marja Mariane¹ TORRES, José Ricardo, Paintner.²

Resumo: A luta contra a obesidade é considerada uma tarefa difícil da atualidade. A suplementação com CLA - ácido linoléico conjugado vem sendo muito estudada devido aos seus possíveis efeitos sobre a composição corporal e redução de peso. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de CLA sobre a massa muscular e o peso de ratos Wistar adultos e saudáveis. Foram utilizados 24 ratos divididos em 4 grupos. O grupo 1 (controle) não recebeu ração suplementada com CLA e não praticou exercício físico. O grupo 2 recebeu diariamente ração suplementada com ácido linoléico conjugado Ultimate Nutrition® CLAPure™ na concentração de 2% durante 30 dias. O grupo 3 também recebeu ração suplementada com CLA nas mesmas condições do grupo 2 e praticou exercício físico 5 vezes por semana e o grupo 4 não recebeu suplementação de CLA na ração e apenas praticou o exercício físico nas mesmas condições do grupo 3. Para a avaliação dos resultados, os animais sofreram eutanásia e foram submetidos à autópsia. Pela abertura do abdômen foi feita a análise macroscópica dos órgãos dos animais a fim de identificar possíveis alterações morfológicas. Com um paquímetro mediu-se a concentração de massa magra no fêmur direito de cada animal e com uma trena foi medido o comprimento deles. Os valores de ganho de peso e comprimento não diferiram em relação ao grupo controle ($p \leq 0,05$). Os grupos 3 e 4 demonstraram um aumento de massa magra de 84,54% e 86,36% respectivamente, em relação ao grupo controle e não foi constatada nenhuma alteração nos órgãos dos animais durante a análise macroscópica. A suplementação de CLA na concentração de 2% sobre o consumo diário da dieta durante o período de 30 dias não se mostrou eficiente quanto à redução de peso corporal e ganho de massa magra em ratos Wistar adultos e saudáveis, sendo o exercício físico fator determinante para o ganho de massa muscular.

Palavras chaves: Ácido linoléico conjugado. Obesidade. Exercício Físico.

1 - Acadêmica de Nutrição da Faculdade Assis Gurgacz.

2 - Biólogo especialista em Morfologia Aplicada no Exercício Físico, e Mestrando em Ciência Animal.

INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como o excesso de gordura corporal causado pelo balanço energético positivo entre a ingestão de alimentos e gasto de energia, o que resulta no aumento do tecido adiposo. Outros determinantes que também têm influência sobre a obesidade são os fatores genéticos, endócrinos, ambientais e psicológicos (WAITZBERG, 2002).

Além disso, no Brasil vêm sendo observadas mudanças no hábito alimentar e estilo de vida das pessoas, onde o consumo de alimentos industrializados está aumentando e a prática de atividade física diminuindo (GUEDES & GUEDES, 2003).

O exercício físico realizado regularmente é um dos poucos fatores que podem contribuir na prevenção do ganho de peso, e o condicionamento físico que se ganha através do exercício diminui mortalidade e a morbidade, inclusive nas pessoas que continuarem obesas (MCINNIS, 2000; WHO, 1997).

É comum associarmos “exercício físico” e “atividade física”, entretanto eles não possuem o mesmo significado. Atividade física refere-se a qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos que resultem em um gasto de energia maior que os níveis da taxa de metabolismo basal. E exercício físico é definido por uma atividade física estruturada, planejada e periódica que objetiva a melhora e a manutenção do condicionamento físico (CASPERSEN; POWEL; CHRISTENSON, 1985).

A obesidade está relacionada a uma série de doenças crônico-degenerativas, como: hipertensão arterial, algumas formas de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, dislipidemias, resistência à insulina, síndrome metabólica, entre outras disfunções (CUPPARI, 2002).

O procedimento do diagnóstico da obesidade em adultos é contemplado pelo IMC – Índice de Massa Corporal. Este método é recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), e no Brasil é usado como padrão de referência pelo SISVAN – Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional. O cálculo do IMC é expresso pelo peso em Kg dividido pela altura² (ao quadrado) em metros e tem como pontos de cortes para sua classificação: <18,5 = baixo peso, ≥18,5 a 25 = adequado ou eutrófico, ≥25 a 30 = sobrepeso e ≥30 = obesidade (FAGUNDES; DURA; SARDINHA *et al.*, 2004).

Entretanto o cálculo do IMC não difere o peso magro do peso gordo. O peso magro corresponde aos músculos, ossos e líquidos que constituem o corpo e o peso gordo corresponde somente à gordura. Logo, em casos como o de atletas o IMC pode estar elevado, porque o peso da massa magra é alto, mas o peso de gordura pode estar dentro do limite ideal. Em outros casos, como o de pessoas sedentárias, o IMC pode encontrar-se dentro da normalidade, porém a quantidade de gordura corporal pode estar acima do ideal (BARROS, 2002).

É preocupante para os órgãos federais o fato do número de pessoas com excesso de peso estar aumentando cada vez mais. A obesidade já é considerada um problema de saúde pública no mundo todo (WHO, 1998).

E as pessoas na tentativa de reverter às conseqüências estéticas e fisiológicas do peso excessivo se dispõem periodicamente a dietas desgastantes e de alto custo financeiro (CUPPARI, 2002).

A maioria destas dietas não se mostram adequadas, principalmente as mais conhecidas pelas pessoas ou as famosas dietas da “moda”, que podem até causar prejuízos à saúde depois de determinado período de tempo (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1998).

As pessoas movidas pela crença de que a saúde possa ser comprada recorrem aos “suplementos dietéticos”, fortalecendo cada vez mais este mercado (PEREIRA; LAJOLO; HIRSCHBRUCH, 2003 *apud* KURTZWELL, 1998).

Estes produtos são vendidos mesmo sem haver comprovação científica sobre sua eficácia e sobre os riscos e benefícios causados a saúde dos consumidores a curto e longo prazo (PEREIRA; LAJOLO; HIRSCHBRUCH, 2003).

Um desses produtos é o Ácido Linoléico Conjugado – CLA, que tem sido considerado uma forte arma no combate à obesidade devido às suas possíveis propriedades moduladoras no metabolismo dos lipídios. Porém, sua eficácia quanto à redução de peso ainda não foi comprovada (MOURÃO; MONTEIRO; COSTA *et al.*, 2005).

Presume-se que os mecanismos de ação que expliquem estes efeitos são: a redução da proliferação e diferenciação de pré-adipócitos demonstradas pela inibição do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR γ), gasto energético aumentado, mudança da atividade das enzimas carnitina palmitoiltransferase e lipase lipoprotéica e da concentração de leptina (MEDINA; HORN; KEIM *et al.*, 2000; GRANLUND; JUVET; PEDERSEN *et al.*, 2003).

Outras implicações também são investigadas a respeito da suplementação de CLA, como alterações na composição corporal, diminuição da aterosclerose, prevenção e terapêutica da diabetes mellitus tipo 2, modulação do sistema imunológico, aumento da mineralização óssea e efeito antitrombogênico (BOTELHO; SANTOS-ZAGO; REIS, *et al.*, 2005 *apud* CHOUINARD; BAUMAN; BAUMGARD, 1999).

Quanto a seus possíveis efeitos desfavoráveis há estudos que relatam o aumento da resistência à insulina e a maior peroxidação lipídica (YAMAZAKI; MANSHO; MISHIMA *et al.*, 2000, RISÉRUS; VESSBY; ARNLOV *et al.*, 2004).

O CLA refere-se a uma mistura de isômeros geométricos e de posição do ácido linoléico que possuem as duplas ligações conjugadas normalmente encontradas nas posições 9 cis e 11 trans ou 10 trans e 12 cis. Origina-se no rúmen de animais pelo processo de biohidrogenação dos ácidos graxos poliinsaturados proveniente da bactéria *Butyrivibrio fibrisolvens* que isomeriza o ácido linoléico para as formas cis 9 e trans 11 (KEPLER; HIRONS; MCNEILL, *et al.*, 1966).

As maiores fontes de ácido linoléico conjugado encontram-se na gordura de animais ruminantes, como a carne bovina, produtos lácteos, entre outros (PARIZA; PARK; COOK, 1997).

Há muitas controvérsias a respeito da suplementação de CLA devido aos diferentes efeitos fisiológicos citados por várias pesquisas (BOTELHO; SANTOS-ZAGO; REIS *et al.*, 2005).

Este trabalho teve como objetivo analisar o efeito do ácido linoléico conjugado sobre o ganho de massa muscular e o peso de ratos Wistar adultos e saudáveis que praticaram ou não atividade física.

METODOLOGIA

Foram utilizados para pesquisa 24 ratos machos saudáveis e adultos, da linhagem Wistar, provenientes do biotério da Faculdade Assis Gurgacz – FAG.

Para determinar a quantidade diária de ração que foi disponibilizada para cada rato durante o experimento, realizou-se um estudo piloto que teve 5 dias de duração. Foram utilizados 6 ratos machos adultos e saudáveis da raça Wistar.

Diariamente foi oferecido para cada animal 30g de ração da marca Biotec, e observado a quantidade ingerida. Ao final deste período de 5 dias foi feita a média de consumo diário de ração.

Durante o período experimental e o estudo piloto, os animais permaneceram em gaiolas de crescimento individuais, consumindo água e ração da marca Biotec, com controle de temperatura e umidade na faixa de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e 60% -70%, respectivamente, e ciclo claro e escuro de 12 horas.

Após um período de 5 dias de adaptação, os ratos foram divididos aleatoriamente em 4 grupos: controle e experimentais, contendo 6 ratos em cada grupo. O acompanhamento do ganho de peso era realizado a cada 2 dias, o controle da dieta era feito diariamente e o do exercício físico 5 vezes na semana.

Os grupos 2 e 3 receberam ração Biotec suplementada com ácido linoléico conjugado Ultimate Nutrition ® CLAPure™ na concentração de 2% por ser economicamente mais viável e obter os mesmos resultados que na concentração de 4% (BOTELHO; SANTOS-ZAGO; REIS, *et al.*, 2005). Os grupos 3 e 4 praticaram atividade física na esteira com a velocidade de 10m/min, aumentando sua intensidade para 12m/min após 2 semanas de experimento. O grupo 1 correspondia ao grupo controle que não praticou exercício físico e não recebeu a ração suplementada com ácido linoléico conjugado Ultimate Nutrition ® CLAPure™.

Ao final do experimento, que teve 30 dias de duração, os animais sofreram eutanásia e foram congelados para posterior necrópsia. Após o período de 68 dias foi realizada a autópsia, onde verificou-se o comprimento de cada rato com uma trena, medindo-se da região rostral a caudal. Foi aberto o abdômen destes animais, expondo todos os órgãos para análise macroscópica, a fim de identificar possíveis alterações morfológicas nos mesmos. E com um paquímetro mediu-se concentração de massa muscular no fêmur direito de cada rato.

Todos os dados foram analisados pelo programa estatístico JMP Statistical Analys System Las Institute inc. EUA, 1989 - 2000 Versão 4.0.0 usando a probabilidade de Tukey, e os resultados foram representados em tabela.

RESULTADOS

Os valores de ganho de peso expressos na Tabela 1 demonstram que os grupos 2, 3 e 4 não apresentaram resultados estatisticamente significativos ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo 1. O mesmo pode-se observar quanto aos valores do comprimento corporal.

Com relação ao ganho de massa muscular, observa-se que os grupos 3 e 4 apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo controle sendo que o grupo 3 obteve um aumento de massa correspondente a 84,54% e o grupo 4 de 86,36%.

Na análise macroscópica dos órgãos dos animais não foi observada nenhuma alteração.

TABELA 1 – Valores médios referentes ganho de peso, comprimento e ganho de massa muscular de 24 ratos do grupo controle e experimentais em Cascavel no ano de 2006

Grupos	Ganho de peso (g)	Comprimento (cm)	Ganho de massa muscular (mm)
1	97,0 ^a	23,83 ^a	0,110 ^a
2	107,5 ^a	23,5 ^a	0,158 ^a
3	118,8 ^a	23,66 ^a	0,203 ^b
4	125,8 ^a	23,5 ^a	0,205 ^b

Nota: Letras diferentes na coluna indicam diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% probabilidade por Tukey.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que o efeito do CLA relacionado ao ganho de massa magra foi nulo. O grupo 2 que recebeu somente a suplementação com CLA não demonstrou aumento significativo na massa muscular, e o grupo 3 que recebeu a suplementação e praticou exercício físico teve aumento de massa muito semelhante ao do grupo 4 que apenas exercitou-se e não recebeu CLA em sua

alimentação. Este fato evidenciou que o CLA não foi o fator decisivo para o aumento da massa magra, e sim o exercício físico.

Sobre a redução de peso corporal, tanto o exercício físico quanto o CLA se mostraram ineficientes. Entretanto os grupos que praticaram exercício físico ganharam massa muscular, o que pode resultar em aumento de peso (BARROS, 2002).

Em estudo realizado com indivíduos com sobrepeso ou obesidade, que receberam dieta com diferentes doses de CLA/dia 1,7g; 3,4g; 5,1g ou 6,8g ou 9g/dia de óleo de oliva (caracterizando o grupo placebo), constatou-se redução no tecido adiposo nos grupos que receberam 3,4g e 6,8g de CLA e observou-se aumento de massa magra no grupo que recebeu 6,8g de CLA. Todavia, além da suplementação com CLA realizou-se entre os grupos um treinamento físico com diferentes intensidades. O que não possibilitou avaliar se a modificação na composição corporal foi causada pelo exercício físico, pela suplementação de CLA ou por estes dois fatores combinados (BLANKSON; SATKKESTAD; FAGERTUN *et al.*, 2000).

Quanto à ineficiência do CLA relacionada à perda de peso outras pesquisas encontraram resultados semelhantes, como a de West; Blohm; Truett *et al.*, (2000) na qual camundongos AKR/J (com grande tendência à obesidade) que receberam alimentação rica em lipídios com ou sem CLA a 1%, não obtiveram diferença no peso corporal ao final do experimento. Contudo, foi observada uma redução de 50% no peso do tecido adiposo dos animais que receberam alimentação com CLA.

Em um estudo feito com humanos, indivíduos obesos receberam dieta hipocalórica contendo ou não CLA (2,7g/dia) e praticaram exercício físico durante 6 meses. O grupo tratado com CLA demonstrou maior disposição ao ganho de massa magra e diminuição de tecido adiposo, entretanto ao final do experimento não foi detectada diferença na perda de peso e tecido adiposo entre os grupos (PARK; STORKSON; ALBRIGHT *et al.*, 1999).

Não foram observadas alterações no peso corporal, massa magra e circunferência abdominal em pesquisa de Smedman & Vessby (2001) realizada com 53 pessoas saudáveis entre homens e mulheres, com idade de 23 a 63 anos, suplementados com CLA (4,2g/dia) durante 12 semanas.

E em pesquisa feita com mulheres obesas que receberam 3g de CLA por 64 dias também não foi constatada mudança na composição corporal. Além disso,

avaliou-se gasto energético, taxa de oxidação de lipídios e quociente respiratório, os quais não apresentaram alterações (ZAMBELL; KEIM; VAN LOAN *et al.*, 2000).

Segundo Blankson; Stakkestad; Fagertun *et al.* (2000); West; Blohm; Truett *et al.* (2000); Park; Storkson; Albright *et al.* (1999) o CLA se mostrou eficaz quanto a redução de tecido adiposo, entretanto ele não demonstrou o mesmo efeito quanto a diminuição de peso corporal.

CONCLUSÃO

A suplementação com ácido linoléico conjugado na concentração de 2% sobre o consumo diário da dieta durante o período de 30 dias não se mostrou eficiente quanto à redução de peso corporal e ganho de massa magra em ratos Wistar adultos e saudáveis. Sendo que o exercício físico foi o fator determinante neste experimento para o aumento da massa muscular.

É preciso que seja feita a padronização do protocolo da análise de gordura corporal em ratos, assim os resultados poderão ser comparados com maior confiabilidade.

São necessárias mais pesquisas relacionadas aos efeitos da suplementação com CLA visto que este produto já é comercializado mesmo sem haver um consenso científico sobre seus riscos ou benefícios à saúde.

Alimentação balanceada associada à prática de exercício físico continua sendo a fórmula mais eficiente no combate à obesidade. Tanto a dieta quanto o exercício devem ser realizados com orientação médica, destacando a importância da equipe multidisciplinar, na qual o nutricionista tem papel fundamental.

REFERÊNCIA

BARROS, T. L. **O programa das 10 semanas**: uma proposta para trocar gordura por músculos e saúde. 1.ed. São Paulo: Manole, 2002, p.28.

BOTELHO, A. P.; SANTOS-ZAGO, L. F.; REIS, S. M. P. M.; OLIVEIRA, A. C. Conjugated linoleic acid supplementation decreased the body fat in Wistar rats. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.4, p.391-399, ago. 2005.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDTSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight obese humans. **Journal of Nutrition**, Estados Unidos, v.130, n.12, p.2943-2948, dez. 2000.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Report**, Estados Unidos, v.100, n.2, p.126-131, mar./abr. 1985.

CUPPARI, L. **Guias de medicina ambulatorial e hospitalar UNIFESP/Escola Paulista de Medicina - Nutrição**: nutrição clínica no adulto. São Paulo: Manole, 2002, p.131.

FAGUNDES, A. R.; DURA, H.; SARDINHA, L.; LEÃO, M.; VASCONCELLOS, A. B. **Vigilância alimentar e nutricional – SISVAN**. Orientações básicas para coleta, análise de dados e a informação em serviços de saúde. Ministério da Saúde: 2004, p.22.

GRANLUND, L.; JUVET, L.; PEDERSEN, J.; NEBB, H. Trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid prevents triacylglycerol accumulation in adipocytes by acting as a PPAR γ modulator. **Journal of Lipid Research**, Estados Unidos, v.44, n.8, p.1441-1452, ago. 2003.

GUEDES P. D.; GUEDES P. R. E. **Controle do Peso Corporal: composição corporal, atividade física e nutrição**. 2.ed. Rio de Janeiro: Shape, 2003, p.29-30.

KEPLER, C. R.; HIRONS, K. P.; MCNEILL, J. J.; TOYE, S. B. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry**, Estados Unidos, v.241, n.6, p.1350-1354, mar. 1966.

MAHAN L. K.; ESCOTT-STUMP S. **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia**. 9ed. São Paulo: Roca, 1998.

MEDINA, E. A.; HORN, W. F.; KEIM, N. L.; HAVEL, P. J.; BENITO, P.; KELLEY, D. S.; NELSON, G. J.; ERICKSON, K. L. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on circulating leptin concentrations and appetite. **Lipids**, Estados Unidos, v.35, n.7, p.783-788, jul. 2000.

MCINNIS, K. J. Exercise and obesity. **Coronary Artery Disease**, Inglaterra, v.11, n.2, p.111-116, mar. 2000.

MOURÃO, D. M.; MONTEIRO, J. B. R.; COSTA, N. M. B.; STRINGHETA, P. C.; MINIM, V. P. R.; DIAS, C. M. G. Ácido linoléico conjugado e perda de peso. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.3, mai./jun., 2005.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress on Lipid Research**, Inglaterra, v.40, n.4, p.283-298, jul. 2001.

PARK, Y.; STORKSON, J. M.; ALBRIGHT, K. J.; LIU, W.; PARIZA, M. W. Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. **Lipids**, Estados Unidos, v.34, n.3, p.235-241, mar. 1999.

PEREIRA, R. F.; LAJOLO, F. M.; HIRSCHBRUCH, M. D. Consumo de suplementos por alunos de academias de ginástica em São Paulo. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n.3, p. 265-272, jul./set. 2003.

RISÉRUS, U.; VESSBY, B.; ARNLOV, J.; BASU, S. Effects of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. **American Journal of Clinical Nutrition**, Estados Unidos, v.80, n.2, p.279-283, ago. 2004.

SMEDMAN, A.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans-metabolic effects. **Lipids**, Estados Unidos, v.36, n.8, p.773-781, ago. 2001.

WAITZBERG L. D. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica 1**. 3.ed. São Paulo: Atheneu , 2002.

WEST, D. B.; BLOHM, F. Y.; TRUETT, A. A.; DELANNY, J. P. Conjugated linoleic acid persistently increases total energy expenditure in AKR/J mice without increasing uncoupling protein gene expression. **Journal of Nutrition**, Estados Unidos, v.130, n.10, p.2471-2477, out. 2000.

WHO - World Health Organization. **Obesity - preventing and managing the global epidemic**. Geneva: Report of a WHO Consultation on Obesity, 1997.

_____. World Health Organization. **Obesity - preventing and managing the global epidemic**. Geneva: Report of a WHO Consultation on Obesity, 1998.

YAMAZAKI, M.; MANSHO, K.; MISHIMA, H.; KIMURA, G.; SASAKI, M.; KASAI, M.; TACHIBANA, H.; YAMADA, K. Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid peroxidation and histological change in rat liver tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Estados Unidos, v.48, n.12, p.6367-6371, dez. 2000.

ZAMBEL, K. L.; KEIM, N. L.; VAN LOAN, M. D.; GALE, B.; BENITO, P.; KELLEY, D. S.; NELSON, G. J. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition and energy expenditure. **Lipids**, Estados Unidos, v.35, n.7, p.777-782 jul. 2000.